

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003年5月8日 (08.05.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/037316 A1

(51) 国際特許分類: A61K 31/12, 31/353, 31/37, 35/78, C07D 311/30, 311/36, 311/38, 311/58, 493/04, 311/18, A61P 3/04, 3/06, 3/10, 9/10, 9/12, 37/02, 43/00

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 鐘淵化学工業株式会社 (KANEKA CORPORATION) [JP/JP]; 〒530-8288 大阪府 大阪市 北区中之島3丁目2番4号 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/10572

(22) 国際出願日: 2002年10月11日 (11.10.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願2001-313816	2001年10月11日 (11.10.2001)	JP
特願2002-6304	2002年1月15日 (15.01.2002)	JP
特願2002-42466	2002年2月20日 (20.02.2002)	JP
特願2002-226486	2002年8月2日 (02.08.2002)	JP

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 前展正 (MAE, Tatsumasa) [JP/JP]; 〒675-0111 兵庫県 加古川市 平岡町二俣861-9 Hyogo (JP). 塚川 美寿 (TSUKAGAWA, Misuzu) [JP/JP]; 〒674-0092 兵庫県 明石市 二見町東二見515-1 メゾンドール明石東二見605号 Hyogo (JP). 北原 幹郎 (KITA-HARA, Mikio) [JP/JP]; 〒654-0067 兵庫県 神戸市 須磨区 離宮西町1丁目2-20-804 Hyogo (JP). 中川 格 (NAKAGAWA, Kaku) [JP/JP]; 〒603-8123 京都府 京都市 北区 小山下花ノ木町19番地 Kyoto (JP). 北村 志郎 (KITAMURA, Shiro) [JP/JP]; 〒673-0882 兵庫県 明石市 相生町1丁目10-36-601 Hyogo (JP). 上田 恭義 (UEDA, Yasuyoshi) [JP/JP]; 〒671-1227 兵庫

[続葉有]

(54) Title: PEROXISOME PROLIFERATOR ACTIVATED RECEPTOR LIGANDS AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤及びその製造法

(57) Abstract: It is intended to conveniently and effectively provide peroxisome proliferator activated ligands and compositions containing the same as the active ingredient for improving insulin resistance or preventing and/or relieving insulin resistance syndrome. Peroxisome proliferator activated ligands which comprise prenyl flavonoid, flavonol derivatives other than prenyl flavonoid, chalcone derivatives other than prenyl flavonoid, or salts, glycosides and/or esters thereof which are accepted as medicines, foods or drinks; compositions containing these ligands; extracts originating in plants containing these ligands; and a process for producing such extract.

(57) 要約:

本発明は、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤、及び、それを有効成分として含有する、インスリン抵抗性の改善、又は、インスリン抵抗性症候群の予防及び/若しくは改善用組成物を簡便且つ効率的に提供すること。

プレニルフラボノイド、プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体、プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体、医薬上若しくは飲食上許容されるそれらの塩、配糖体及び/又はエステル化体からなるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤; 上記リガンド剤を含む組成物; 上記リガンド剤を含む植物由来の抽出物; 上記抽出物の製造方法である。



県 姫路市 網干区和久 1 4 0-1 5 Hyogo (JP). 黒田
明平 (KURODA, Minpei) [JP/JP]; 〒177-0035 東京都
練馬区 南田中 3 丁目 3 1-6-2 0 9 Tokyo (JP). 三
巻 祥浩 (MIMAKI, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒193-0932 東
京都 八王子市 緑町 8 9 9-1 2 Tokyo (JP). 指田 豊
(SASHIDA, Yutaka) [JP/JP]; 〒192-0371 東京都 八王子
市 南陽台 3 丁目 2 0-7 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 安富 康男, 外(YASUTOMI, Yasuo et al.); 〒
532-0011 大阪府 大阪市 淀川区 西中島 5 丁目 4 番
2 0 号 中央ビル Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,
NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ,

TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA,
ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ
特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特
許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受
領の際には再公開される。

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明細書

ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤及びその製造法

技術分野

- 5 本発明は、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤及びその製造方法、
更にはペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤を有効成分として含有す
る、インスリン抵抗性の改善、又は、インスリン抵抗性症候群（2型糖尿病、高
インスリン血症、脂質代謝異常、肥満、高血圧、動脈硬化性疾患）の予防及び／
若しくは改善用組成物に関する。

10

背景技術

- ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (peroxisome proliferator-activated receptor: PPAR) は、脂質代謝を維持する遺伝子群の発現制御を担う転写制御因子として同定された核内受容
- 15 体ファミリーに属するリガンド依存性転写制御因子である。哺乳動物では PPAR α 、PPAR δ (PPAR β 、NUC-1、FAAR)、PPAR γ の3種のサブタイプの存在が知られており、PPAR α は主に肝臓で、PPAR δ は普遍的に発現している。PPAR γ には PPAR γ 1 と PPAR γ 2 の2種のアイソフォームが存在しており、PPAR γ 1 は脂肪組織の他に免疫系臓器や副腎、小
- 20 腸で発現している。PPAR γ 2 は脂肪組織で特異的に発現しており、脂肪細胞の分化・成熟を制御するマスターレギュレーターである（河田照雄、医学のあゆみ、184、519～523、1998）。

- PPAR γ リガンドとしては、合成化合物ではトログリタゾン、ピオグリタゾン、ロシグリタゾンなどのチアゾリジン誘導体が知られている。天然化合物では、
- 25 15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J₂ や Δ^{12} -プロスタグランジン J₂ などのアラキドン酸代謝物、 ω -3 多価不飽和脂肪酸、 α -リノレン酸、エイコサペンタエン酸 (EPA)、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの不飽和脂肪酸、9-ヒドロキシオクタデカジエン酸や13-ヒドロキシオクタデカジエン酸などのエイコサノイド類などが知られている (J. Auwerx, Diab

etologia, 42, 1033~1049, 1999)。特開2000-355538には、共役トリエン構造又は共役テトラエン構造を有する炭素数10~26の共役不飽和脂肪酸が開示されている。また、フラボノイドでは、フラボン誘導体であるクリシン(chrysin)及びアピゲニン(apigenin)
5)、フラボノール誘導体であるケンブフェロール(kaempferol)がPPAR γ リガンドであることが報告されている(Y. C. Liang, et al., FEBS Letters, 496, 12~18, 2001)。フラボノイドは植物に広く含まれる成分であり、抗酸化作用を有していることは知られている。しかし、特定の植物にのみ含まれるプレニルフラボノイドがPPAR γ リ
10 ガンドであることは未だ知られていない。

PPAR γ リガンドであるチアゾリジン誘導体は、そのアゴニスト活性と血糖降下作用が相関することからインスリン抵抗性改善作用との関連が注目され、2型糖尿病(インスリン非依存性糖尿病: NIDDM)に対するインスリン抵抗性改善薬として開発された。すなわち、PPAR γ リガンドであるチアゾリジン誘
15 導体はPPAR γ を活性化することにより、前駆脂肪細胞から分化した正常機能を有する小型脂肪細胞を増加させ、インスリン抵抗性を惹起するTNF α や遊離脂肪酸の産生や分泌が亢進している肥大脂肪細胞をアポトーシスにより減少させることで、インスリン抵抗性を改善する(A. Okuno, et al., Journal of Clinical Investigation, 101,
20 1354~1361, 1998)。またPPAR γ リガンドは、インスリン抵抗性を改善することから、2型糖尿病だけでなく、高インスリン血症、脂質代謝異常、肥満(特に内臓脂肪型肥満)、高血圧、動脈硬化性疾患といったインスリン抵抗性症候群(R. A. DeFronzo & E. Ferrannini, Diabetes Care, 14, 173~194, 1991)の予防・改善にも有
25 効である。インスリン抵抗性症候群と同様の病態概念として、シンドロームX(G. M. Reaven, Diabetes, 37, 1595~1607, 1988)、死の四重奏(N. M. Kaplan, Archives of Internal Medicine, 149, 1514~1520, 1989)、内臓脂肪症候群(Y. Matsuzawa, Diabetes/Metabolis

m Reviews, 13, 3~13, 1997) が挙げられる。

さらにPPAR γ リガンドは、炎症性サイトカインの産生を抑制すること (C. Jiang, et al., Nature, 391, 82~86, 1998)、アポトーシスを誘導して癌細胞の増殖を抑制すること (Y. Tsubouchi, 5 et al., Biochemical and Biophysical Research Communications, 270, 400~405, 2000) から、炎症や癌の予防・改善にも有効である。

発明の要約

10 上記に鑑み、PPAR γ リガンドはインスリン抵抗性を改善し、2型糖尿病をはじめ、高インスリン血症、脂質代謝異常、肥満（特に内臓脂肪型肥満）、高血圧、動脈硬化性疾患などのインスリン抵抗性症候群を予防及び／又は改善する効果を有する。本発明は、天然物より見出したPPARリガンド剤、及びその簡便且つ効率的な製造法、更にはそれを有効成分として含有する、インスリン抵抗性の改善、又は、インスリン抵抗性症候群の予防及び／若しくは改善用組成物を提供することを課題とする。

本発明者らは、食経験のある天然物からPPAR γ リガンド活性を有するものを探索した結果、甘草をはじめとする植物の抽出物にPPAR γ リガンド活性があることを見出した。また、本発明者らは、その活性成分を鋭意探索した結果、20 当該抽出物中の特定成分がPPAR γ リガンド活性を有していることを見出した。さらに本発明者らは、甘草よりこれらの成分を抽出するには、有機溶媒、好ましくは脂肪酸エステルや水溶性有機溶剤、なかんずく水溶性有機溶剤を用いれば効率的に抽出できることを見出し、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明の第1発明は、プレニルフラボノイド、プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体、プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体、医薬上若しくは飲食上許容されるそれらの塩、配糖体及び／又はエステル化体からなるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤に関する。

第2発明は、プレニルフラボノイド、プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体、プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体、医薬上若しくは飲

食上許容されるそれらの塩、配糖体及び／又はエステル化体からなるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤を含有する、植物由来の抽出物に関する。

第3発明は、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体のリガンド結合領域に結合する能力を有するプレニルフラボノイド、プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体、
5 プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体、医薬上若しくは飲食上許容されるそれらの塩、配糖体及び／又はエステル化体を有効成分として含有する、インスリン抵抗性の改善、又は、インスリン抵抗性症候群の予防及び／若しくは改善用組成物に関する。

第4発明は、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体のリガンド結合領域に結合
10 する能力を有するプレニルフラボノイド、プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体、プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体、医薬上若しくは飲食上許容されるそれらの塩、配糖体及び／又はエステル化体を有効成分として含有する、炎症又は癌の予防及び／又は改善用組成物に関する。

第5発明は、全表面積に占める皮の面積の割合が3割以上の甘草から抽出する、
15 上記抽出物の製造方法に関する。

第6発明は、甘草を脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤で抽出する、上記抽出物の製造方法に関する。

第7発明は、含水率が30容量%以下の有機溶媒を用いて甘草から抽出する、
上記抽出物の製造方法に関する。

20

発明の詳細な開示

以下に、本発明の実施の形態を詳しく説明する。

PPARリガンド剤（好ましくはPPAR γ リガンド剤）は、PPARリガンド活性（好ましくはPPAR γ リガンド活性）を有する化合物、すなわちPPAR
25 R（好ましくはPPAR γ ）のリガンド結合領域に結合する能力を有する化合物である。PPAR γ リガンド活性は、例えば、PPAR γ リガンド結合領域とGAL4との融合蛋白に対する結合をルシフェラーゼの発現で評価するレポーター・アッセイ（B. M. Forman, et al., Cell, 83, 803～812, 1995）や、PPAR γ リガンド結合領域を含む蛋白を用いたコンペ

ディション・バインディング・アッセイ (S. A. Kliewer, et al., Cell, 83, 813~819, 1995) などにより測定することができる。これらのアッセイにおいて、サンプルの活性は一般に溶媒対照と比較し、溶媒対照よりも高い活性を示し、なおかつ用量依存性が認められるサンプルを「P

5 PARYリガンド活性あり」と評価する。

本発明のPPARリガンド剤、好ましくはPPARYリガンド剤は、プレニルフラボノイド、プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体、プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体、医薬上若しくは飲食上許容されるそれらの塩、配糖体及びエステル化体からなる群より選ばれた少なくとも1種の化合物で

10 ある。

医薬上若しくは飲食上許容される塩としては特に限定されないが、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、カルシウム塩などが挙げられる。

医薬上若しくは飲食上許容される配糖体としては特に限定されないが、例えば、グルコース、ガラクトースなどの単糖の配糖体、または二糖やオリゴ糖の配糖体

15 などが挙げられる。

医薬上若しくは飲食上許容されるエステル化体としては特に限定されないが、例えば、酢酸エステル、プロピオン酸エステル、リン酸エステル、硫酸エステルなどが挙げられる。

これらの化合物のうち少なくとも1種を有効成分として含有する本発明の組成

20 物は、インスリン抵抗性を改善することから、糖尿病をはじめインスリン抵抗性症候群の予防及び／又は改善剤として有用である。

本発明のPPARリガンド剤であるプレニルフラボノイドとしては特に限定されないが、3-アリルクマリン誘導体、イソフラブ-3-エン誘導体、イソフラバン誘導体、イソフラバノン誘導体、イソフラボン誘導体、フラボノール誘導体、

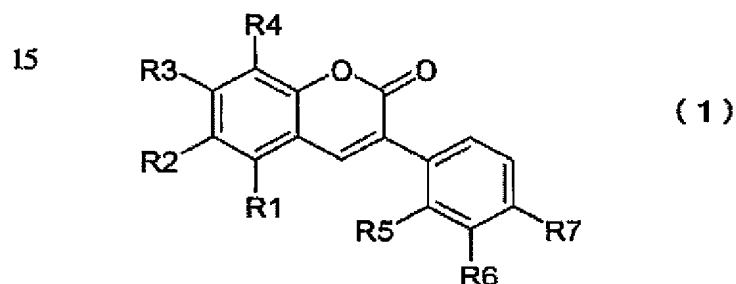
25 フラバノン誘導体、カルコン誘導体、ジベンゾイルメタン誘導体からなる群より選ばれた少なくとも1種の化合物が好ましい。

ここでいうプレニルフラボノイドとは、フラボノイドの側鎖に下記(A)又は(B)を少なくとも1つ以上有している化合物とする：(A)プレニル基、(B)プレニル基がそれと隣接する水酸基と結合して $[-CH=CHC(CH_3)_2]$

6

O-] となり 6 員環を形成した構造。フラボノイドは、2つのフェニル基が3つの炭素原子を介して結合している物質群の総称であり、例えば、フラボン、フラボノール、フラバノン、フラバノール、イソフラボン、イソフラボノール、イソフラバノン、イソフラバン、イソフラブ-3-エン、3-アリルクマリン、カルコン、ジヒドロカルコン、ジベンゾイルメタン、クメスタン、プテロカルパン、カテキン、アントシアニジンなどである。

本発明に用いるプレニルフラボノイドである3-アリルクマリン誘導体は、特に限定されないが、下記一般式(1)で表されるものが好ましく、例えば、グリシクマリン(glycycoumarin)、グリシリン(glycyrin)、ガンカオニンW(gancaonin W)、グリアスペリンL(glyasperin L)、カンゾノールW(kanzonol W)など、表1に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。この中でも、グリシクマリン又はグリシリンがより好ましい。



20 [R1~R7は、プレニル基又は隣接する2個のRが-CH=CHC(CH₃)₂O-で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又はOCH₃である。]

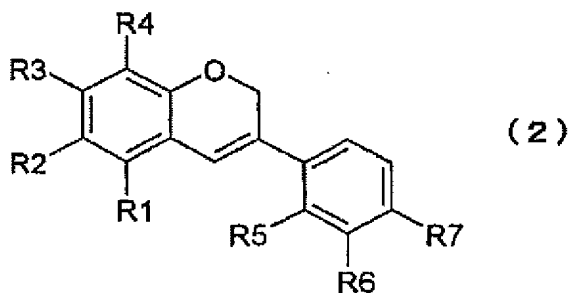
25

30

表 1

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	3-Arylcoumarin(s)
OCH ₃	prenyl	OH	H	OH	H	OH	glycy coumarin
OCH ₃	prenyl	OCH ₃	H	OH	H	OH	glycyrin
OCH ₃	H	OH	H	OH	prenyl	OH	gancanin W
OCH ₃	H	OH	H	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	OH	glyasperin L
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	OH	H	OH	kanzonol W
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	OH	H	OCH ₃	RL-P
H	H	OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	OH	RL-U

本発明に用いるプレニルフラボノイドであるイソフラブー3-エン誘導体は、特に限定されないが、下記一般式(2)で表されるものが好ましく、例えば、デヒドログリアスペリンC (dehydroglyasperin C)、デヒドログリアスペリンD (dehydroglyasperin D)、グラブレン (glabrene)、RL-Sなど、表2に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。この中でも、デヒドログリアスペリンC、デヒドログリアスペリンD又はグラブレンがより好ましい。また、デヒドログリアスペリンDは本発明において初めて見出された新規化合物である。

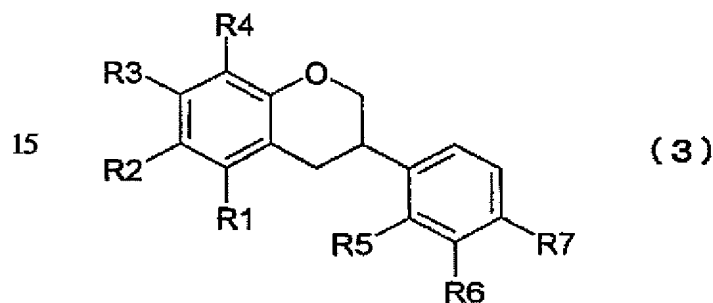


[R1~R7は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

表 2

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Isoflav-3-ene(s)
OCH ₃	prenyl	OH	H	OH	H	OH	dehydroglyasperin C
OCH ₃	prenyl	OCH ₃	H	OH	H	OH	dehydroglyasperin D
H	H	OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	OH	glabrene
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	OH	H	OH	RL-S

本発明に用いるプレニルフラボノイドであるイソフラベン誘導体は、特に限定されないが、一般式(3)で表されるものが好ましく、例えば、グリアスペリンC(glyasperin C)、グリアスペリンD(glyasperin D)、グリアスペリンI(glyasperin I)、リコリシディン(licoricidin)、
 5 リコリソフラバンA(licorisoflavan A)など、表3に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。この中でも、グリアスペリンD、グラブリジン(glabridin)、ヒスパグラブリジンB(hispaglabridin B)、4'-O-メチルグラブリジン(4'-O-methylglabridin)又は3'-ヒドロキシ-4'-O-メチルグラブリジン(3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin)がより好ましい。



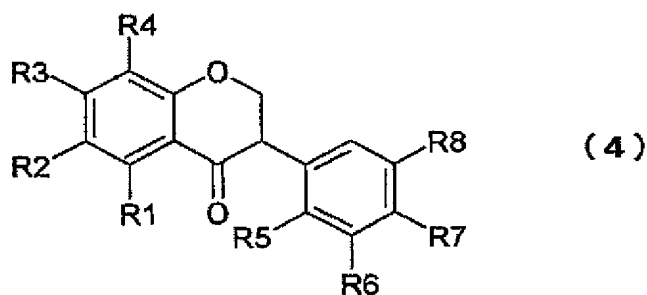
[R1～R7は、プレニル基又は隣接する2個のRが-CH=CHC(CH₃)₂O-で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又はOCH₃である。]

20

表 3

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Isoflavan(s)
OCH ₃	prenyl	OH	H	OH	H	OH	glyasperin C
OCH ₃	prenyl	OCH ₃	H	OH	H	OH	glyasperin D
OCH ₃	prenyl	OH	H	OCH ₃	H	OH	glyasperin I
OCH ₃	prenyl	OH	H	OH	prenyl	OH	licoricidin
OCH ₃	prenyl	OCH ₃	H	OH	prenyl	OH	licorisoflavan A
OCH ₃	prenyl	OCH ₃	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	kanzonol I
H	prenyl	OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	glyinflanin I
H	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		H	OH	H	OCH ₃	gancaonin X
OCH ₃	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		H	OH	prenyl	OCH ₃	kanzonol H
OCH ₃	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OCH ₃	kanzonol J
H	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		H	glyinflanin J
H	H	OH	H	OH	prenyl	OCH ₃	gancaonin Z
OCH ₃	H	OH	H	OH	prenyl	OCH ₃	kanzonol R
H	H	OH	prenyl	OH	prenyl	OH	kanzonol X
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	H	OH	glabridin
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	H	OCH ₃	4'-O-methylglabridin
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	OH	OCH ₃	3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	OCH ₃	OH	3'-O-methylglabridin
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	OCH ₃	OH	glyasperin H
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	OH	OH	hispaglabridin A
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		hispaglabridin B
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OCH ₃	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		methylhispaglabridin B
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		H	glyinflanin K
H	H	OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		OCH ₃	gancaonin Y
H	H	OH	H	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		phaseollinisoflavan
H	H	OH	prenyl	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		8-prenyl-phaseollinisoflavan

本発明に用いるプレニルフラボノイドであるイソフラバノン誘導体は、特に限定されないが、下記一般式(4)で表されるものが好ましく、例えば、グリアスペリンB (glyasperin B)、グリアスペリンK (glyasperin K)、カンゾノールG (kanzonol G)、3'-プレニル-キエビトン (3'-prenyl-kievitone)、グリアスペリンF (glyasperin F) など、表4に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。この中でも、グリアスペリンB又はグリチルイソフラバノン (glycyrrhisoflav anone) がより好ましい。

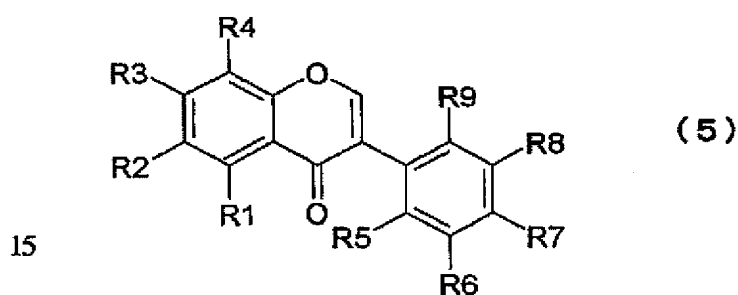


[R1～R8は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

表 4

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	Isoflavone(s)
OH	prenyl	OCH ₃	H	OH	H	OH	H	glyasperin B
OH	prenyl	OCH ₃	H	OH	H	OCH ₃	H	glyasperin K
OH	prenyl	OCH ₃	H	OH	prenyl	OH	H	kanzonol G
OH	H	OH	prenyl	OH	prenyl	OH	H	3'-prenyl-kievitone (3',8-diprenyldalbergioidin)
OH	H	OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	OH	OH	H	glyasperin F
OH	H	OH	prenyl	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	OH	OH	H	glyasperin J
OCH ₃	H	OH	H	H	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	H	glycyrrhisoflavanone
OCH ₃	H	OH	H	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	OH	H	glyasperin M
OH	H	OH	H	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	OH	H	licoisoflavanone
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	OH	OH	H	OH	H	RL-Q
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	OH	OH	H	OCH ₃	H	RL-R
OH	prenyl	OH	H	OH	prenyl	OH	H	No Name

本発明に用いるプレニルフラボノイドであるイソフラボン誘導体は、特に限定されないが、下記一般式(5)で表されるものが好ましく、例えば、ワイテオン(wighteone)、ガンカオニンA(gancaonin A)、ガンカオニンB(gancaonin B)、ガンカオニンG(gancaonin G)、ガンカオニンN(gancaonin N)など、表5に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。この中でも、グリウラリンB(glyurallin B)、ルピワイテオン(lupiwighteone)、セミリコイソフラボンB(semilicoisoflavone B)又はグリチルイソフラボン(glycyrrhisoflavone)がより好ましい。

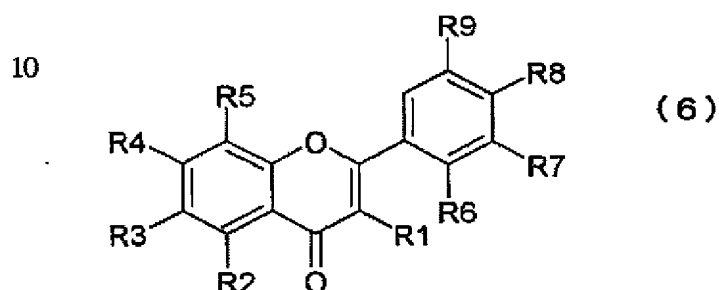


[R1～R9は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

表 5

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	Isoflavone(s)
OH	prenyl	OH	H	H	H	OH	H	H	wighteone
OH	prenyl	OH	H	H	H	OCH ₃	H	H	gancaonin A
OH	prenyl	OH	H	H	OH	OCH ₃	H	H	gancaonin B
OH	prenyl	OCH ₃	H	H	H	OH	H	H	gancaonin G
OH	prenyl	OH	H	OH	H	OCH ₃	H	H	gancaonin N
OH	prenyl	OCH ₃	H	OH	H	OH	H	H	7-O-methyluteone
OH	prenyl	OCH ₃	H	OH	prenyl	OH	H	H	kanzonol K
OH	prenyl	OH	prenyl	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	OH	OH	H	H	kanzonol L
OH	prenyl	OH	H	H	OH	OH	prenyl	H	isoangustone A
OH	prenyl	OH	H	H	OH	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	H	gancaonin H
OH	H	OH	prenyl	H	H	OH	H	H	lupiwighteone
OH	H	OH	prenyl	H	OH	OH	H	H	gancaonin L
OH	H	OH	prenyl	H	H	OCH ₃	H	H	gancaonin M
OH	H	OH	prenyl	H	OH	OH	prenyl	H	glyurallin B
OH	H	OH	prenyl	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	OH	OH	H	H	glyasperin N
H	H	OH	H	OH	prenyl	OH	H	H	eurycarpin A
OH	H	OH	H	OH	prenyl	OH	H	H	liscoisoflavone A
OH	H	OH	H	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	H	H	H	liscoisoflavone B
H	H	OH	H	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	H	H	H	glabrone
OH	H	OH	H	H	OH	OH	prenyl	H	glycyrrhisoflavone
OCH ₃	H	OH	H	H	OH	OH	prenyl	H	glisoflavone
OH	H	OH	H	H	OH	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	H	semilicoisoflavone B
H	H	OH	H	OH	H	OH	prenyl	OCH ₃	glicoricone
H	H	OH	H	OH	H	OCH ₃	prenyl	OCH ₃	licoricone

本発明に用いるプレニルフラボノイドであるフラボノール誘導体は、特に限定されないが、下記一般式(6)で表されるものが好ましく、例えば、リコフラボノール(licoflavonol)、ガンカオニンP(gancaonin P)、トパゾリン(topazolin)、グリアスペリンA(glyasperin A)、イソリコフラボノール(isolicoflavonol)など、表6に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。この中でも、イソリコフラボノール、リコフラボノール又はトパゾリンがより好ましい。

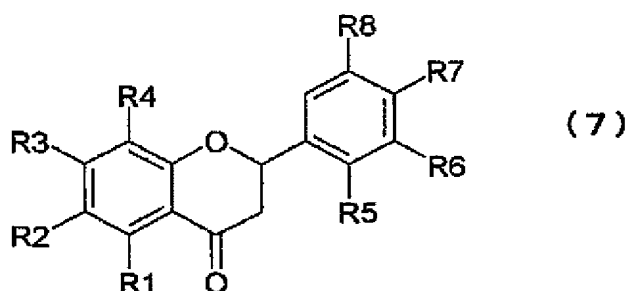


- 15 [R1はOH又はOCH₃である。R2～R9は、プレニル基又は隣接する2個のRが-CH=CHC(CH₃)₂O-で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又はOCH₃である。]

表 6

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	Flavonol(s)
OH	OH	prenyl	OH	H	H	H	OH	H	licoflavonol
OH	OH	prenyl	OH	H	H	OH	OH	H	gancanin P
OCH ₃	OH	prenyl	OH	H	H	H	OH	H	topazolin
OH	OH	prenyl	OH	H	H	prenyl	OH	H	glyasperin A
OH	OH	H	OH	H	H	prenyl	OH	H	isolicoflavonol
OH	OH	H	OH	prenyl	H	H	H	H	glepidotin A
OH	H	OH	OH	H	prenyl	OH	OH	H	neuraleanol
OH	OH	H	OH	H	H	OH	OH	prenyl	uralenol
OCH ₃	OH	H	OH	H	H	OH	OH	prenyl	uralenol-3-O-methyl-ether
OCH ₃	OH	OH	H	H	H	OH	OH	prenyl	uralane

本発明に用いるプレニルフラボノイドであるフラバノン誘導体は、特に限定されないが、下記一般式(7)で表されるものが好ましく、例えば、6-プレニルピノセム布林(6-prenylpinocembrin)、6-プレニルナリンゲニン(6-prenylnaringenin)、6-プレニルエリオジクチオール(6-prenyleriodictyol)、シノフラバノンB(sinoflavanone B)、パラトカルピンL(paratocarpin L)など、表7に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も含まれる。この中でも、グラブロール(glabrol)がより好ましい。

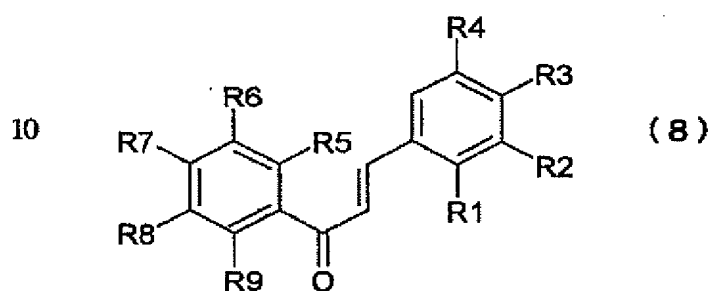


[R1~R8は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

表 7

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	Flavanone(s)
OH	prenyl	OH	H	H	H	H	H	6-prenylpinocembrin
OH	prenyl	OH	H	H	H	OH	H	6-prenylnaringenin
OH	prenyl	OH	H	H	OH	OH	H	6-prenyleriodytyol
OH	prenyl	OH	prenyl	H	H	H	H	sinoflavanone B
OH	prenyl	OH	H	H	prenyl	OH	H	paratocarpin L
H	H	OH	prenyl	H	H	H	H	ovaliflavanone B
H	H	OH	prenyl	H	H	OH	H	isobavachin
OH	H	OH	prenyl	H	H	H	H	glabranin
OH	H	OH	prenyl	H	H	OH	H	sophoraflavanone B
OH	H	OH	prenyl	H	OH	OH	H	8-prenyleriodytyol
OH	H	OH	prenyl	H	OCH ₃	OH	H	exiguaflavanone K
OH	H	OH	prenyl	H	prenyl	OH	H	glabrol
H	H	OH	prenyl	H	prenyl	OH	H	euchrestaflavanone A
OH	H	OH	prenyl	H	OH	OH	prenyl	gancaonin E
OH	H	OH	prenyl	H	H	OH	H	citflavanone
OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	prenyl	OH	H	shinflavanone
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	OH	H	xambioona
H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	H	prenyl	OH	H	licoflavanone
OH	H	OH	H	H	OH	OH	prenyl	sigmoidin B (uralenin)
OH	H	OH	H	H	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	H	sigmoidin C
H	prenyl	OH	prenyl	H	H	OH	H	No Name

本発明に用いるプレニルフラボノイドであるカルコン誘導体は、特に限定されないが、下記一般式(8)で表されるものが好ましく、例えば、リコカルコンC (licochalcone C)、リコカルコンD (licochalcone D)、グリインフラニンG (glyinflanin G)、カンゾノールB (kanzonol B)、カンゾノールC (kanzonol C) など、表8に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。この中でも、リコカルコンCがより好ましい。

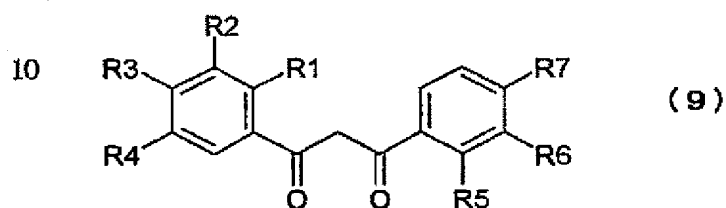


15 [R1～R9は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

表 8

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	Chalcone (s)
OCH ₃	prenyl	OH	H	H	H	OH	H	H	licochalcone C
OCH ₃	OH	OH	H	H	prenyl	OH	H	H	licochalcone D
H	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	OH	OH	OH	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	OH	H	H	glyinflanin G
H	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	OH	H	OH	H	OH	H	H	kanzonol B
H	prenyl	OH	H	H	H	OH	prenyl	OH	kanzonol C
H	H	OH	H	OH	H	OCH ₃	prenyl	H	isobavachalcone
H	prenyl	OH	H	OH	prenyl	OH	H	H	No Name
H	OH	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-	CH=CH-	OH	prenyl	OH	H	H	No Name
H	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-	OH	OH	H	H	OH	prenyl	OH	No Name

本発明に用いるプレニルフラボノイドであるジベンゾイルメタン誘導体は、特に限定されないが、下記一般式(9)で表されるものが好ましく、例えば、グリシルジオンA (glycyrdione A)、グリシルジオンB (glycyrdione B)、グリシルジオンC (glycyrdione C)、グリインフラニンB (glyinflanin B)、グリインフラニンD (glyinflanin D) など、表9に示す化合物が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。この中でも、グリシルジオンA又はグリシルジオンCがより好ましい。



15 [R1～R7は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

表 9

R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Dibenzoylmethane(s)
OH	H	OH	prenyl	H	prenyl	OH	glycyrdione A (glyinflanin A)
OH	H	OH	prenyl	H	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		glycyrdione B
OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		H	prenyl	OH	glycyrdione C (glyinflanin C)
OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		H	H	OH	glyinflanin B
OH	H	-OC(CH ₃) ₂ CH=CH-		H	-CH=CHC(CH ₃) ₂ O-		glyinflanin D
OH	H	OH	H	H	prenyl	OH	kazonol A
OH	H	OH	prenyl	H	H	OH	5'-prenyl-licodione

本発明に用いるプレニルフラボノイドではないカルコン誘導体としては特に限定されないが、エチナチン (echinatin)、イソリクイリチゲニン (isoliquiritigenin)、リコカルコンA (licochalcone A)、リコカルコンB (licochalcone B) が挙げられる。

- 5 また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。

本発明に用いるプレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体としては特に限定されないが、ケンプフェロール3-O-メチルエステル (kaempferol 3-O-methylester) が挙げられる。また、これらの化合物の塩、配糖体、エステル化体などの誘導体も挙げられる。

- 10 尚、これらの化合物の名称は、平賀敬夫及び梶山喜一郎の報告 (明治薬科大学紀要, 27, 9~57, 1997) 並びに T. Nomura & T. Fukai の報告 (Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, 73, 1~158, 1998) を参照した。

- 15 本発明のPPARリガンド剤は、上記化合物であれば、植物等の天然由来、化学合成あるいは培養細胞などにより生合成した化合物のいずれも使用することができるが、食経験のある天然由来であるのが好ましい。これらの化合物を得る方法は、特に限定されないが、食経験のあるマメ科の甘草から得ることができ、他の植物から得ることもできる。他の植物としては、PPARリガンド剤、好ましくはPPAR γ リガンド剤を含有する植物であれば特に限定されず、マメ科の植物の他に、例えば、クワ科、トチュウ科、アサ科、イラクサ科などの植物が挙げられる。
- 20

以下、本発明のPPARリガンド剤の製造法について甘草から得る場合を例に説明するが、必ずしも甘草に限定されるものではない。

- 25 使用しうる甘草は、マメ科カンゾウ属 (Glycyrrhiza属) の植物であれば良く、例えば、グリキルリーザ・ウラレンシス (Glycyrrhiza uralensis Fisch. et DC; ウラルカンゾウ)、G. インフラータ (G. inflata BAT.; チョウカカンゾウ)、G. グラブラ (G. glabra L.; ヨウカンゾウ)、G. グラブラ (G. glabra

- L. var glandu r i f e r a R e g e l e t H e r d e r ;
ナンキンカンゾウ)、G. エチナータ (G. e c h i n a t a L. ; シナカン
ゾウ)、G. パリディフローラ (G. p a l l i d i f l o r a M a x i m ;
イヌカンゾウ) やその他同属植物 (L e g u m i n o s a e) を挙げることで
5 できる。産地としては、例えば、新疆産、東北産、西北産、モンゴル産、ロシア産、
アフガニスタン産、イラン産、トルコ産等である。なかでも上述したような P P
A R リガンド活性成分の含量が高い G. ウラレンシス (産地：東北産、西北産、
モンゴル産、新疆産等)、G. グラブラ (産地：ロシア産、アフガニスタン産、
イラン産、トルコ産等)、G. インフラータ (産地：新疆産等) が好ましく、特
10 に G. ウラレンシスが好ましく用いられる。

- 本発明において、上記甘草の根、根茎又はストロンの使用が好ましく、これら
は、微粉碎品、粉碎品、切断品、あるいは上記甘草の周皮が用いられる。ここで、
微粉碎品とはいわゆる粉末あるいは粉末に近いものをいい、粉碎品とは糸状ある
いは繊維状あるいは綿状のもの (例えば、長さ 5 mm 程度から 10 cm 程度のも
15 の) をいう。また、切断品とは、甘草の根、根茎又はストロン等を切断したもの
(例えば、長さは、普通 1 ~ 10 cm 程度、好ましくは約 1 ~ 5 cm 程度、より
好ましくは 2 ~ 4 cm 程度であり、太さは、普通約 3 cm 以下、好ましくは約 2
cm 以下、より好ましくは約 1 cm 以下の程度に輪切りにしたもの) であり、普
通円柱状もしくはそれと本質的に類似した形態を有する。微粉碎品、粉碎品、切
20 断品は、通常の機器を使用して得ることができる。微粉碎品は、例えば、マス
ローダー式粉碎機、石臼式粉碎機等により粉末あるいは粉末に近いものとして得
ることができ、粉碎品は、例えば、ハンマーミル式粉碎機等で得ることができる。
また、切断品は、上記甘草の根等を通常の裁断機で上記長さに切断し得ることが
できる。

- 25 尚、上記甘草は、その種類、産地、採取時期等により有効成分の組成や含有量
が多少異なるので、予め実験により有効成分を多く含有することが確認されたも
のを使用するのが好ましい。

抽出法としては、上記甘草から有機溶剤を用いて抽出する方法を挙げることが
できるが、予め甘草を水などで抽出した水抽出残渣、又はその残渣を乾燥させた

ものから有機溶剤を用いて抽出しても良い。

ここで用いる有機溶剤は、特に制限されないが、医薬品や食品、食品添加物などの製造、加工に使用できる安全なものが好ましく、例えば、アセトン、炭素数 1～4 の 1 価アルコール、グリセリン、脂肪酸エステル、ジエチルエーテル、シクロヘキサン、二酸化炭素、プロピレングリコールなどが挙げられ、またこれら
5 の溶剤のうち少なくとも 2 種以上を混合して用いても良い。これらのうち、好適に使用しうる溶剤としては、酢酸エチル等の脂肪酸エステルや、炭素数 1～4 の 1 価アルコール、アセトン、プロピレングリコール、グリセリン等の水溶性有機溶剤であり、特に好ましくは、上記水溶性有機溶剤である。

10 抽出後は、活性炭や樹脂等による吸着処理及び／又は分別等により精製して、抽出物中の活性成分の含有量を高めるのが好ましい。抽出で得たものをシリカゲル、ODS、イオン交換樹脂などのカラムクロマトグラフィーにより、目的の化合物を濃縮、分画又は単離することができる。

勿論、その他化学合成を利用してこれら目的の化合物を得ても良い。

15

以下、本発明における PPAR リガンド剤を含有する甘草抽出物の好ましい製造法として、甘草を脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤で抽出する方法について詳細に説明する。脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤で抽出した甘草抽出物は、良好な PPAR リガンド活性を示す傾向にあり、特に、水溶性有機溶媒の使用は
20 効率的に PPAR リガンド活性物質を取得するため好ましい。

甘草から脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤で目的物質を抽出する際には、甘草の微粉碎品、粉碎品、切断品、あるいは周皮などをそのまま抽出しても構わないが、上述の如く、予め甘草を別の溶媒（例えば、水、アルカリ性水溶液等）で前抽出した後の甘草前抽出残渣から脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤で抽出す
25 ることにより不純物等を除去しても良い。

甘草を別の溶媒（水、アルカリ性水溶液等）で前抽出した後は、一般的な分離操作（例えば、加圧濾過、減圧濾過、フィルタープレス、遠心分離、沈降等）により、抽出液と甘草抽出残渣を分離し、甘草前抽出残渣を得ることができる。尚、上記分離操作においては、必要に応じ、活性炭、活性白土等の一般に使用しうる

濾過助剤や吸着剤等を使用しうる。

このようにして得られた甘草前抽出残渣はそのまま、あるいは、一般的な乾燥操作（例えば、静置乾燥、攪拌乾燥、混合乾燥、流動乾燥、気流乾燥、噴霧乾燥、凍結乾燥、凍結濃縮等）により、使用した別の溶媒（水、アルカリ性水溶液等）

- 5 の一部又は全てを除去した後、脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤による抽出に用いられる。

- 本抽出法において、好適に使用しうる脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤としては、特に制限されないが、酢酸エチル等の酢酸エステル、炭素数1～4の1価アルコール、アセトン、プロピレングリコール、グリセリン等、あるいは、これ
10 らの混合物を挙げることができるが、好ましくは、酢酸エチル等の酢酸エステル、炭素数1～4の1価アルコール、アセトン又はこれらの混合物であり、より好ましくは酢酸エチル、エタノール、アセトン又はこれらの混合物である。とりわけ、溶媒の人体に対する安全性の観点においてはエタノールが好ましい。後述するグリチルリチン等の水溶性不純物の混入を低く抑えるという点では、炭素数2～4
15 の1価アルコール、脂肪酸エステル、アセトンが好ましく、特に脂肪酸エステルやアセトンが好ましく、さらには酢酸エステルやアセトンが好ましく、なかでも酢酸エチルやアセトンがより好ましい。尚、言うまでもなく、悪影響のない範囲で、他の溶剤を共存させることを妨げない。

- ところで、本発明においては、甘草抽出物中の有効成分含量を高め、且つ、グ
20 リチルリチン等の水溶性不純物の含量を低く抑えることが重要である。

- グリチルリチンは医薬としても利用されているが、血圧上昇作用、心筋障害、水血症（以上、Harders, H. & Rausch-Stroomann, J. G., Munch. Med. Wschr. 95, 580 (1953)）、低カリウム血症、血漿レニン活性減少、偽性アルドステロン症、四肢弛緩性麻痺（以上、
25 Conn, J. W., Rovner, D. R. & Cohen, E. L., J. Am. Med. Assoc. 205, 492 (1968)）、尿中アルドステロン排泄減少、浮腫、頭痛、嗜眠状態（以上、Epstein, M. T., et al., Brit. Med. J., 1, 488 (1977)）等の副作用があり、またショ糖の150倍の甘さがある。グリチルリチンの混入は、甘草抽出物のも

つ種々の効果を阻害したり、副作用や強い甘さのために食品等としての利用に不利を生じる。

- 得られる甘草抽出物中の有効成分含量を高め、且つ、グリチルリチン等の水溶性不純物含量を低く抑えるためには、有機溶媒による抽出時に共存する水分含量を低くするのが好ましい。そのためには、一般に、極力乾いた甘草を用い、更に、
- 5 水を含まない有機溶媒を使用することが重要となる。

しかしながら、甘草はいうまでもなく植物体であり、極力乾いた甘草を得るためには、通常行われている天日干し等では必ずしも十分ではなく、乾燥器等の使用が必要となる。これは、工業的規模での生産上、大きな難点となる。

- 10 また、水を含まない有機溶媒を使用したとしても、用いる甘草や作業環境からの水分の混入を完全に防止することが困難なために、水分含量の増加した有機溶媒として回収される。これを、そのままリサイクルすることは難しく、有機溶媒を使い捨てにするか、あるいは、無水化のための特殊で高価な精製設備が必要となり、いずれにせよ、製造コストの上昇につながる。

- 15 従って、有効成分含量が高く、水溶性不純物含量の低い高品質の甘草抽出物を極めて簡便かつ安価に製造することができれば、非常に大きなメリットが期待できる。

- 本発明者らが鋭意検討した結果、上記高品質の甘草抽出物を得る為には、甘草の形態として、全表面積に占める皮の面積の割合が高いもの、普通3割以上、好ましくは5割以上、より好ましくは7割以上、とりわけ8割以上、なかならず9割以上のもの（具体的には、前記の切断品や周皮（周皮を主とするものを含む））を使用するのが好ましいことを見出した。更に、上記の甘草の形態を用いれば、含水した水溶性有機溶媒を用いた場合でも高品質の甘草抽出物を得ることができることを見出した。
- 20

- 25 前記の切断品や周皮（周皮を主とするものを含む）のうち、加工がより容易である切断品の使用がより好ましく、切断品の場合は、全表面積に占める皮の面積の割合が、普通5割以上、好ましくは7割以上、より好ましくは8割以上、とりわけ9割以上であるのが好適である。

この方法に依れば、特に上記の水溶性有機溶媒、好ましくは炭素数2～4の1

価アルコール、より好ましくはエタノールを用いる場合にその効果が最大限に発揮される。

- 用いる有機溶媒の含水率としては、普通約30容量%以下、好ましくは約20容量%以下、より好ましくは約10容量%以下、とりわけ約8容量%以下のものを好適に使用しうる。下限は、特に制限されないが、実用性の観点から、普通約3容量%、好ましくは約4容量%である。

- これにより、有効成分含量が高く、水溶性不純物含量の低い高品質の甘草抽出物を好適に取得できる。得られる抽出物中のグリチルリチン含量は、好ましくは0.5重量%以下に最小化できる。また、(甘草を特別に乾燥することなく、)
- 10 抽出溶媒として安価な含水した水溶性有機溶媒を使用する場合においても高品質の抽出物を好適に取得できる。

- 上記の脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤による抽出は、一般的な方法に従って実施することができ、特に制限されない。抽出温度は、特に制限されず、系の固化温度から沸点の間、一般に-20~100℃、普通1~80℃、好ましくは
- 15 20~60℃で好適に実施しうる。

- 抽出の操作は、上記の甘草又は甘草前抽出残渣に対して、例えば1~20倍容量、好ましくは2~10倍容量の上記脂肪酸エステル又は水溶性有機溶剤を用いて、例えば、0.1時間以上、好ましくは0.2時間以上、より好ましくは0.5時間以上、抽出を行えば良い。普通、1回当たりの抽出時間は1~10時間程度で好適に実施しうる。上限は特に制限されず、1日程度であるが、更に長時間行っても良い。抽出は、必要に応じて、1回もしくは複数回実施しても良く、また用いる溶剤を適宜組み合わせても良い。抽出時の圧力は、特に制限されない。常圧~加圧された状態(1~数気圧)が用いられうるが、所望ならば減圧にすることもできる。還流下に、またやや加圧された状態で実施しうる。

- 25 上記の抽出後は、一般的な分離操作(例えば、加圧濾過、減圧濾過、遠心分離、沈降等)により、抽出液と甘草抽出残渣を分離し、所望により上記溶剤で洗浄を行い、甘草抽出液を得ることができる。尚、上記分離操作においては、必要に応じて、活性炭、活性白土、樹脂等の一般に使用しうる濾過助剤や吸着剤等を使用しうる。

このようにして得られた甘草抽出液は、一般的な溶剤除去操作（例えば、常圧濃縮、減圧濃縮、噴霧乾燥、凍結乾燥、凍結濃縮等）により使用した溶剤を除去し、溶剤が除去された甘草抽出物を取得することができる。尚、上述したように、抽出後は、活性炭や樹脂等による吸着処理及び／又は分別等により精製して、抽出物中の活性成分の含有量を高めるのがより好ましい。

- 尚、本発明の製造法においては、活性成分の安定性の面から、上記の一連の操作、なかでも溶剤による抽出、又は溶剤による抽出及びその後の操作（抽出液の分離、溶剤除去、活性炭や樹脂等による吸着処理及び／又は分別等）は、窒素ガス等を用いる不活性ガス雰囲気下等の脱酸素雰囲気下に行うのが好ましい。酸化を抑制する目的で、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウム、アスコルビン酸パルミチン酸エステル、アスコルビン酸ステアリン酸エステル、トコフェロール等の抗酸化剤の共存下に実施しうる。

溶剤を除去した後に得られる甘草抽出物は、一般に、褐色（例えば、黄褐色～黒褐色）である。

- 上記製造法によって得られる甘草抽出物の、甘草に対する抽出物乾体の重量比（乾体基準）は、普通約0.01以上である。

- 本発明の抽出物中のグリチルリチン含量は、乾体基準で、普通0.5重量%以下、好ましくは0.3重量%以下、より好ましくは0.2重量%以下、なかんずく0.1重量%以下と低含量である。本発明の抽出物中のグリチルリチン含量が乾体基準で0.001～0.5重量%の場合、上記副作用や利用上の不利に対し事実上問題はない。

- 抽出物中のグリチルリチン含量は、例えば、試薬として市販のグリチルリチン又はグリチルリチン酸塩を標準物質としてHPLCなどの分析により定量することができる。また、抽出物中のPPARリガンド剤成分の含量は、例えば、本発明のPPARリガンド剤を標準物質としてHPLCなどの分析により定量することができる。標準物質としてのPPARリガンド剤は、甘草等の植物から単離した化合物を用いても良いし、又は化学合成した化合物を用いても良い。抽出物中のPPARリガンド剤成分の総量は、定量したPPARリガンド剤成分の含量の

総和として算出できる。

本発明の抽出物中に含まれるPPARリガンド剤成分の総量は、乾体基準で、普通0.5重量%以上であり、好ましくは1重量%以上、より好ましくは2重量%以上である。特に、炭素数1~4の一価アルコールで抽出した場合には、普通

5 5重量%以上、好ましくは6重量%以上、より好ましくは7重量%以上であり、有効成分が効率良く回収されている。尚、本発明の抽出物中に含まれるPPARリガンド剤成分の総量は、乾体基準で、普通最大50重量%以下であるが、抽出後に活性炭や樹脂等による吸着処理及び/又は分別等により精製して含有量をより高めることができる。

- 10 本発明の抽出物は、主要成分として、例えば、グリシクマリン、グリシリン、デヒドログリアスペリンC、デヒドログリアスペリンD、グリアスペリンB及びグリアスペリンDからなる群より選ばれた少なくとも1種を、抽出物中、乾体基準で普通0.5重量%以上、好ましくは1重量%以上含有していることが好ましい。さらに好ましくは、グリシクマリン、グリシリン、デヒドログリアスペリン
- 15 C、デヒドログリアスペリンD、グリアスペリンB及びグリアスペリンDを、抽出物中、乾体基準で各々0.5重量%以上、好ましくは1重量%以上含有している。これらの成分は甘草のなかでも特にG. ウラレンシスの抽出物に多く含まれる。

- また、例えば、グリチルイソフラバノン、グリチルイソフラボン、グリウラリン
- 20 ンB、セミリコイソフラボンB及びイソリクイリチゲニンからなる群より選ばれた少なくとも1種を、抽出物中、乾体基準で普通0.01重量%以上、好ましくは0.02重量%以上含有していることが好ましい。さらに好ましくは、グリチルイソフラバノン、グリチルイソフラボン、グリウラリンB、セミリコイソフラボンB及びイソリクイリチゲニンを、抽出物中、乾体基準で各々0.01重量%
- 25 以上、好ましくは0.02重量%以上含有している。

また、例えば、グラブレン、グラブリジン、グラブロール、3'-ヒドロキシ-4'-O-メチルグラブリジン、4'-O-メチルグラブリジン及びヒスパグラブリジンBからなる群より選ばれた少なくとも1種を、抽出物中、乾体基準で0.5重量%以上、好ましくは1重量%以上含有していることが好ましい。さら

に好ましくは、グラブレン、グラブリジン、グラブロール、3'-ヒドロキシ-4'-O-メチルグラブリジン、4'-O-メチルグラブリジン及びヒスパグラブリジンBを、抽出物中、乾体基準で各々0.5重量%以上、好ましくは1重量%以上含有している。これらの成分は甘草のなかでも特にG. グラブラの抽出物に多く含まれる。

また、例えば、リコカルコンA、リコカルコンB、リコカルコンC、グリシルジオンA及びグリシルジオンCからなる群より選ばれた少なくとも1種を、抽出物中、乾体基準で0.5重量%以上、好ましくは1重量%以上含有していることが好ましい。さらに好ましくは、リコカルコンA、リコカルコンB、リコカルコンC、グリシルジオンA及びグリシルジオンCを、抽出物中、乾体基準で各々0.5重量%以上、好ましくは1重量%以上含有している。これらの成分は甘草のなかでも特にG. インフラータの抽出物に多く含まれる。

本発明のインスリン抵抗性の改善又はインスリン抵抗性症候群の予防及び/若しくは改善用組成物、並びに、本発明の炎症又は癌の予防及び/若しくは改善用組成物は、本発明のPPARリガンド剤を含有する組成物である。すなわち、プレニルフラボノイド、プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体、プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体、医薬上若しくは飲食上許容されるそれらの塩、配糖体及びエステル化体からなる群より選ばれた少なくとも1種の化合物を含有する組成物である。

上記と同様、プレニルフラボノイドとしては特に限定されないが、3-アリルクマリン誘導体、イソフラブ-3-エン誘導体、イソフラバン誘導体、イソフラバノン誘導体、イソフラボン誘導体、フラボノール誘導体、フラバノン誘導体、カルコン誘導体、ジベンゾイルメタン誘導体からなる群より選ばれた少なくとも1種の化合物が好ましい。

ここで、上記化合物は、純粋な化合物を使用しても良く、また、医薬品や食品として不適当な不純物を含有しない限り半精製又は粗製のものを使用することもできる。その場合、上記抽出物をそのまま用いても良く、あるいは、それを更に精製したものであっても良い。その形態は限定されず、例えば、保健機能食品（

特定保健用食品、栄養機能食品) や健康食品、栄養補助食品などの飲食品、医薬品、医薬部外品などとして用いることができる。

本発明の組成物は、ヒトに投与してもよいし、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、ニワトリ、ヒツジ、ヤギ、マウス、ラット等の家畜又はペットに投与してもよい。

- 5 飲食品として用いる場合は、そのまま直接摂取することができ、また、公知の担体や助剤などを使用してカプセル剤、錠剤、顆粒剤、散剤など服用し易い形態に成型して摂取することができる。更に、本発明のPPARリガンド剤以外の製剤素材を、常法により適宜添加混合しても良い。このようなものとしては特に制限されず、例えば、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、酸化防止剤、着色剤、凝集防止剤、吸収促進剤、安定化剤等が挙げられる。これら成型剤における本発明のPPARリガンド剤の含有量は0.1~100重量%、好ましくは10~90重量%が良い。さらに、飲食物材料に混合して、チューインガム、チョコレート、キャンディー、ゼリー、ビスケット、クラッカーなどの菓子類、アイスクリーム、氷菓などの冷菓類、茶、清涼飲料、栄養ドリンク、美容ドリンクなどの飲料、うどん、中華麺、スパゲティー、即席麺などの麺類、蒲鉾、竹輪、半片などの練り製品、ドレッシング、マヨネーズ、ソースなどの調味料、マーガリン、バター、サラダ油などの油脂類、パン、ハム、スープ、レトルト食品、冷凍食品など、すべての飲食物に使用することができる。これら飲食用組成物を摂取する場合、その摂取量は本発明のPPARリガンド剤として成人一人一日当たり0.1~3000mg/kg体重、好ましくは1~300mg/kg体重が良い。また、家畜やペット用の飼料やペットフードとしても使用することができ、その摂取量は本発明のPPARリガンド剤として一日当たり0.1~3000mg/kg体重が好ましい。
- 10
15
20

- 25 医薬品として用いる場合は、その剤形は特に限定されず、例えば、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、散剤、注射剤、坐剤、貼付剤などが挙げられる。製剤化においては、薬剤学的に許容される他の製剤素材、例えば、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、酸化防止剤、着色剤、凝集防止剤、吸収促進剤、溶解補助剤、安定化剤などを適宜添加して調製することができる。これら製剤の投与量としては、本発明のPPARリガンド剤として成人一人一日当たり0.1~3000mg/kg体

重、好ましくは1〜300mg/kg体重を1回ないし数回に分けて投与する。また、家畜やペット用の医薬品としても使用することができ、その投与量は本発明のPPARリガンド剤として一日当たり0.1〜3000mg/kg体重が好ましい。

- 5 本発明の組成物が錠剤、カプセル剤又は散剤の形態をとり、かつPPARリガ
ンド剤として上記抽出物を含有する場合、上記抽出物を1剤当たり0.1mg～
1000mg含有することが好ましい。

本発明のPPARリガンド剤は、植物由来の抽出物成分及びその類縁化合物であり、毒性が低いと考えられる。また、本発明により得られた抽出物は、甘みなどが障害になる食品にも添加することができる。さらに、従来報告されているPPAR γ リガンドである高度不飽和脂肪酸類に比べて安定性が高く、食品や医薬組成物に適した形状という点も優れている。

発明を実施するための最良の形態

- 15 以下、実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

(実施例 1) 甘草からの化合物の抽出、単離 (1)

- 甘草（*G. ウラレンシス*：東北甘草）の微粉碎品 1. 2 k g を酢酸エチル 5. 5 l に浸し室温・遮光にて 7 日間抽出した後、濾過により抽出液を得た。その抽出液を減圧濃縮して溶媒を除去し、抽出物 74. 0 g を得た。その抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（1500 ml）に付し、クロロホルム：メタノール = 19 : 1（v / v）にて溶出した画分を得た。その溶出画分を減圧濃縮して溶媒を除去し、粗画分 55. 4 g を得た。その粗画分から、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ODS シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ODS カラムを装着した高速液体クロマトグラフィー、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー、分取薄相クロマトグラフィーを繰り返すことにより精製し、化合物 1（22. 5 mg）、化合物 2（80. 7 mg）、化合物 3（19. 6 mg）、化合物 4（22. 2 mg）、化合物 5（3. 9 mg）、化合物 6（72. 8 mg）、化合物

7 (28.3mg)、化合物8 (12.1mg)、化合物9 (6.8mg)、化合物10 (8.5mg)、化合物11 (58.7mg)、化合物12 (10.2mg)を得た。

構造解析の結果、化合物1～3及び5～12は既知化合物であり、それぞれ化合物1はグリシクマリン (glycycoumarin)、化合物2はグリシリン (glycyrin)、化合物3はグリウラリンB (glyurallin B)、化合物5はエチナチン (echinatin)、化合物6はイソリコフラボノール (isolicoflavonol)、化合物7はデヒドログリアスペリンC (dehydroglyasperin C)、化合物8はグリアスペリンB (glyasperin B)、化合物9はグリチルイソフラバノン (glycyrrhisoflavanone)、化合物10はルピワイテオン (lupiwighteone)、化合物11はグリアスペリンD (glyasperin D)、化合物12はセミリコイソフラボンB (semilicoisoflavone B)と同定した。尚、これらの化合物の構造同定において、化合物1はS. Demizu, et al., Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 36, 3474～3479 (1988)、化合物2はT. Kinoshita, et al., Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 26, 135～140 (1978)、化合物3及び7はM. Shibano, et al., Heterocycles, 45, 2053～2060 (1997)、化合物5はK. Kajiyama, et al., Phytochemistry, 31, 3229～3232 (1992)、化合物6及び9はT. Hatano, et al., Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 36, 2090～2097 (1988)、化合物8及び11はL. Zeng, et al., Heterocycles, 34, 575～587 (1992)、化合物10はY. Hashidoko, et al., Agricultural and Biological Chemistry, 50, 1797～1807 (1986)、化合物12はF. Kiuchi, et al., Heterocycles, 31, 629～636 (1990)に記載されたスペクトル

データを参考にした。

化合物4は新規化合物であり、二次元NMR (^1H - ^1H COSY, HMQC, HMBC, PHNOCESY) を中心としたスペクトル解析により、その構造を3-(2', 4'-dihydroxyphenyl)-6-(3'', 3''-dimethylallyl)-5, 7-dimethoxy-2H-chromeneと決定し、デヒドログリアスペリンD (dehydroglyasperin D) と命名した。

化合物4の性状及びスペクトルデータを以下に示す。

Dehydroglyasperin D, 褐色粉末状, $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_5$.

10 EI-MS m/z : 368. 1610 [M] + (計算値, $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_5$: 368. 1624).

UV λ_{max} (メタノール) nm: 330 ($\log \epsilon = 4. 25$), 243 sh ($\log \epsilon = 4. 21$).

15 IR (KBr錠) cm^{-1} : 3375, 2929, 1613, 1516, 1458, 1308, 1198, 1164, 1114, 1092, 1024, 978, 837.

^1H -NMR (重ジメチルスルホキシド) ppm: 7. 06 (1H, d, $J = 8. 4\text{ Hz}$, H-6'), 6. 68 (1H, s, H-4), 6. 34 (1H, d, $J = 2. 3\text{ Hz}$, H-3'), 6. 33 (1H, s, H-8), 6. 26 (1H, dd, $J = 8. 4, 2. 3\text{ Hz}$, H-5'), 5. 09 (1H, br t, $J = 6. 9\text{ Hz}$, H-10), 4. 90 (2H, s, H-2), 3. 75 (3H, s, C-7-OMe), 3. 67 (3H, s, C-5-OMe), 3. 18 (2H, br d, $J = 6. 7\text{ Hz}$, H-9), 1. 71 (3H, s, Me-13), 1. 63 (3H, s, Me-12).

25 ^{13}C -NMR (重ジメチルスルホキシド) ppm: 67. 9 (C-2), 128. 8 (C-3), 114. 7 (C-4), 110. 4 (C-4a), 154. 9 (C-5), 115. 6 (C-6), 158. 0 (C-7), 95. 8 (C-8), 153. 2 (C-8a), 22. 6 (C-9), 124. 1 (C-10), 130. 4 (C-11), 26. 0 (C-12), 18. 1 (C-13), 11

6. 8 (C-1'), 156. 7 (C-2'), 103. 3 (C-3'), 158. 7 (C-4'), 107. 4 (C-5'), 129. 2 (C-6'), 62. 3 (C-5-OMe), 56. 3 (C-7-OMe).

5 (実施例2) 甘草からの化合物の抽出、単離 (2)

実施例1と同様に、甘草 (G. ウラレンシス) の微粉碎品よりエタノール抽出して各種クロマトグラフィーを行い、化合物13~17を得た。構造解析の結果、化合物13はイソリクイリチゲニン (isoliquiritigenin)、化合物14はケンプフェロール3-O-メチルエステル (kaempferol 3-O-methyl ester)、化合物15はリコフラボノール (licoflavonol)、化合物16はトパゾリン (topazolin)、化合物17はグリチルイソフラボン (glycyrrisoflavone) と同定した。

15 (実施例3) 甘草からの化合物の抽出、単離 (3)

実施例1又は2と同様にして、甘草 (G. グラブラ) の微粉碎品よりエタノール抽出して化合物18~23を、甘草 (G. インフラータ) の微粉碎品よりエタノール抽出して化合物24~28を得た。構造解析の結果、化合物18はグラブリジン (glabridin)、化合物19はグラブレネ (glabrene)、化合物20はヒスパグラブリジンB (hispaglabridin B)、化合物21は4'-O-メチルグラブリジン (4'-O-methylglabridin)、化合物22は3'-ヒドロキシ-4'-O-メチルグラブリジン (3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin)、化合物23はグラブロール (glabrol)、化合物24はリコカルコンA (licochalcone A)、化合物25はリコカルコンB (licochalcone B)、化合物26はリコカルコンC (licochalcone C)、化合物27はグリシルジオンA (glycyrdione A)、化合物28はグリシルジオンC (glycyrdione C) と同定した。

化合物1~28の構造式を表10~13に示す。

表 10

化合物番号	化合物名	構造式
化合物 1	グリシクマリン (glycycoumarin)	
化合物 2	グリシリン (glycyrin)	
化合物 3	グリウラリン B (glyurallin B)	
化合物 4	デヒドログリアスペリン D (dehydroglyasperin D)	
化合物 5	エチナチン (echinatin)	
化合物 6	イソリコフラボノール (isolicoflavonol)	
化合物 7	デヒドログリアスペリン C (dehydroglyasperin C)	
化合物 8	グリアスペリン B (glyasperin B)	

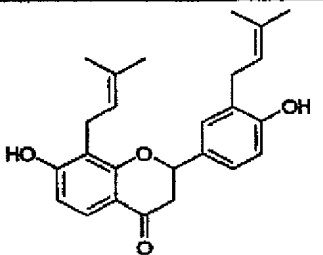
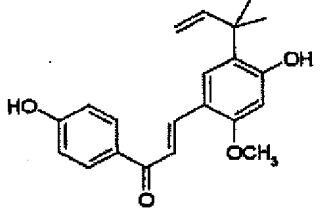
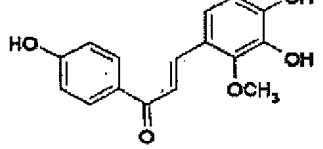
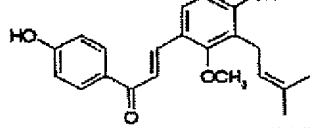
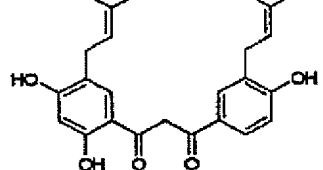
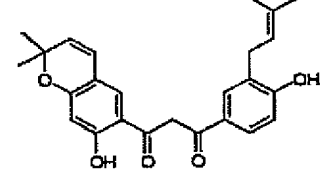
表 1 1

化合物番号	化合物名	構造式
化合物 9	グリチルイソフラバノン (glycyrrhisoflavanone)	
化合物 10	ルピワイテオン (lupiwighteone)	
化合物 11	グリアスペリンD (glyasperin D)	
化合物 12	セミリコイソフラボンB (semilicoisoflavone B)	
化合物 13	イソリクイリチゲニン (isoliquiritigenin)	
化合物 14	ケンプフェロール 3-O-メチル エステル (kaempferol 3-O-methylester)	
化合物 15	リコフラボノール (licoflavonol)	

表 1 2

化合物番号	化合物名	構造式
化合物 1 6	トパゾリン (topazolin)	
化合物 1 7	グリチルイソフラボン (glycyrrhisoflavone)	
化合物 1 8	グラブリジン (glabridin)	
化合物 1 9	グラブレネ (glabrene)	
化合物 2 0	ヒスパグラブリジン B (hispaglabridin B)	
化合物 2 1	4'-O-メチルグラブリジン (4'-O-methylglabridin)	
化合物 2 2	3'-ヒドロキシ-4'-O-メチル グラブリジン (3'-hydroxyl-4'-O-methylg labridin)	

表 1 3

化合物番号	化合物名	構造式
化合物 2 3	グラブロール (glabrol)	
化合物 2 4	リコカルコン A (licochalcone A)	
化合物 2 5	リコカルコン B (licochalcone B)	
化合物 2 6	リコカルコン C (licochalcone C)	
化合物 2 7	グリシルジオン A (glycyrdione A)	
化合物 2 8	グリシルジオン C (glycyrdione C)	

(実施例4) PPAR γ リガンド活性の測定

CV-1細胞（雄性アフリカミドリザル腎臓由来の培養細胞）を96穴培養プレートに 6×10^3 cells/wellとなるように植え込み、37℃、5% CO₂条件下で24時間培養した。培地には、10% FBS（ウシ胎仔血清）、

5 10 ml/L ペニシリン・ストレプトマイシン溶液（それぞれ5000 IU/ml、5000 μ g/ml、GIBCO社）、37 mg/L アスコルビン酸（和光純薬工業株式会社）を含むDMEM（Dulbecco's Modified Eagle Medium: GIBCO社）を用いた。細胞をOPTI-MEM（GIBCO社）で洗浄した後、pM-mPPAR γ と4×UASg-lucを

10 リポフェクトアミン・プラス（GIBCO社）を用いてトランスフェクションした。尚、pM-mPPAR γ は酵母由来転写因子GAL4遺伝子（アミノ酸配列1～147）とマウスPPAR γ リガンド結合部位遺伝子（アミノ酸配列174～475）を結合したキメラ蛋白発現用プラスミドであり、4×UASg-lucはルシフェラーゼ遺伝子上流にGAL4の応答配列（UASg）を4回組み

15 込んだレポーター・プラスミドである。トランスフェクションの約24時間後、サンプルを含む培地に交換し、24時間培養した（n=4）。サンプルはジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解したものを、無処置対照にはDMSOを用い、培地に1/1000量添加した。細胞をCa, Mg含有リン酸緩衝生理食塩水（PBS+）で洗浄した後、ルックライト（Packard社）を添加し、トップ

20 カウント・マイクロプレートシンチレーション/ルミネッセンスカウンター（Packard社）にてルシフェラーゼの発光強度を測定した。

測定群と同様に、コントロール群としてpM-mPPAR γ の代わりにpM（PPAR γ リガンド結合部位遺伝子を除去したプラスミド）を用いて測定した。各サンプルについて、測定群及びコントロール群の発光強度の平均値（n=4）

25 の比（測定群/コントロール群）を算出し、無処置対照に対する比活性をサンプルのPPAR γ リガンド活性とした。

実施例1～3で得た化合物1～28のPPAR γ リガンド活性を測定した結果を表14～17に示す。また比較化合物として、甘草の成分であるグリチルリチン（グリチルリチン酸: glycyrrhizic acid: 和光純薬工業株

式会社)、グリチルレチン酸 (glycyrrhetic acid: 和光純薬工業株式会社)、クエルセチン (quercetin: Sigma 社) の PPAR γ リガンド活性を測定した。

5 表 1 4

	添加濃度	PPAR γ リガンド活性
無処置対照 (DMSO)	0.1%	1.00
トログリタゾン	0.5 μ M	2.17 \pm 0.08
	1 μ M	3.36 \pm 0.24
	2 μ M	4.60 \pm 0.27
化合物 1 (グリシクマリン)	2 μ g/ml (5.4 μ M)	2.03
	5 μ g/ml (13.6 μ M)	2.79
	10 μ g/ml (27.2 μ M)	3.82
化合物 2 (グリシリン)	2 μ g/ml (5.2 μ M)	2.81
	5 μ g/ml (13.1 μ M)	3.34
	10 μ g/ml (26.2 μ M)	3.67
化合物 3 (グリウラリン B)	2 μ g/ml (4.7 μ M)	1.28
	5 μ g/ml (11.8 μ M)	1.96
	10 μ g/ml (23.7 μ M)	2.73
化合物 4 (デヒドログリアスペリン D)	2 μ g/ml (5.4 μ M)	2.95
	5 μ g/ml (13.6 μ M)	3.72
	10 μ g/ml (27.2 μ M)	4.00
化合物 5 (エチナチン)	2 μ g/ml (7.4 μ M)	1.45
	5 μ g/ml (18.5 μ M)	2.35
	10 μ g/ml (37.0 μ M)	2.49

表 1 5

	添加濃度	P P A R γ リガンド活性
無処置対照 (DMSO)	0.1%	1.00
5 トログリタゾン	0.5 μ M	2.44 \pm 0.10
	1 μ M	3.99 \pm 0.24
	2 μ M	5.74 \pm 0.31
化合物 6 (インリコフラボノール)	2 μ g/ml (5.6 μ M)	1.73
	5 μ g/ml (14.1 μ M)	2.50
	10 μ g/ml (28.2 μ M)	3.82
化合物 7 (デヒドログリアスペリン C)	2 μ g/ml (5.6 μ M)	2.90
	5 μ g/ml (14.1 μ M)	3.73
	10 μ g/ml (28.2 μ M)	4.41
10 化合物 8 (グリアスペリン B)	2 μ g/ml (5.4 μ M)	2.60
	5 μ g/ml (13.5 μ M)	3.53
	10 μ g/ml (27.0 μ M)	3.02
化合物 9 (グリチルイソフラバノン)	2 μ g/ml (5.4 μ M)	2.01
	5 μ g/ml (13.6 μ M)	3.45
	10 μ g/ml (27.2 μ M)	4.68
化合物 10 (ルピワイテオン)	2 μ g/ml (5.9 μ M)	1.67
	5 μ g/ml (14.8 μ M)	2.53
	10 μ g/ml (29.6 μ M)	3.75
15 化合物 11 (グリアスペリン D)	2 μ g/ml (5.4 μ M)	3.22
	5 μ g/ml (13.5 μ M)	3.28
	10 μ g/ml (27.0 μ M)	4.06
化合物 12 (セミリコイソフラボン B)	2 μ g/ml (5.7 μ M)	1.86
	5 μ g/ml (14.2 μ M)	2.66
	10 μ g/ml (28.4 μ M)	3.15
グリチルリチン	2 μ g/ml (2.4 μ M)	1.21
	5 μ g/ml (6.1 μ M)	1.10
	10 μ g/ml (12.2 μ M)	0.75
グリチルレチン酸	2 μ g/ml (4.2 μ M)	0.97
	5 μ g/ml (10.6 μ M)	0.95
	10 μ g/ml (21.2 μ M)	0.97
20 クエルセチン	2 μ g/ml (5.9 μ M)	1.15
	5 μ g/ml (14.8 μ M)	1.72
	10 μ g/ml (29.6 μ M)	1.70

表 1 6

	添加濃度	PPAR γ リガンド活性
無処置対照 (DMSO)	0.1%	1.00
5 トログリタゾン	0.5 μ M	2.24 \pm 0.56
	1 μ M	3.29 \pm 0.60
	2 μ M	4.80 \pm 1.30
化合物 1 3 (イソリクイリチゲニン)	2 μ g/ml (7.8 μ M)	1.47
	5 μ g/ml (19.5 μ M)	2.71
	10 μ g/ml (39.0 μ M)	3.39
化合物 1 4 (ケンブフェロール 3-O- メチルエステル)	2 μ g/ml (6.7 μ M)	1.86
	5 μ g/ml (16.7 μ M)	2.37
	10 μ g/ml (33.3 μ M)	3.47
10 化合物 1 5 (リコフラボノール)	2 μ g/ml (5.6 μ M)	1.44
	5 μ g/ml (14.1 μ M)	2.27
	10 μ g/ml (28.2 μ M)	4.07
化合物 1 6 (トバソリン)	2 μ g/ml (5.4 μ M)	2.56
	5 μ g/ml (13.6 μ M)	3.64
	10 μ g/ml (27.1 μ M)	5.84
化合物 1 7 (グリチルイソフラボン)	2 μ g/ml (5.6 μ M)	1.78
	5 μ g/ml (14.1 μ M)	3.05
	10 μ g/ml (28.2 μ M)	3.20

15

20

25

表 1 7

5

10

15

20

25

	添加濃度	PPAR γ リガンド活性
無処置対照 (DMSO)	0.1%	1.00
トログリタゾン	0.5 μ M	2.05 \pm 0.35
	1 μ M	3.30 \pm 0.43
	2 μ M	5.66 \pm 1.06
化合物 1 8 (グラブリジン)	2 μ g/ml (6.2 μ M)	1.64
	5 μ g/ml (15.4 μ M)	2.15
	10 μ g/ml (30.8 μ M)	1.98
化合物 1 9 (グラブレン)	2 μ g/ml (6.2 μ M)	1.78
	5 μ g/ml (15.5 μ M)	3.44
	10 μ g/ml (31.0 μ M)	2.89
化合物 2 0 (ヒスパグラブリジンB)	2 μ g/ml (5.1 μ M)	1.04
	5 μ g/ml (12.8 μ M)	1.46
	10 μ g/ml (25.6 μ M)	1.94
化合物 2 1 (4'-O-メチルグラブリジン)	2 μ g/ml (5.9 μ M)	1.26
	5 μ g/ml (14.8 μ M)	1.55
	10 μ g/ml (29.6 μ M)	2.13
化合物 2 2 (3'-ヒドロキシ-4'-O- メチルグラブリジン)	2 μ g/ml (5.6 μ M)	1.61
	5 μ g/ml (14.1 μ M)	2.46
	10 μ g/ml (28.2 μ M)	1.69
化合物 2 3 (グラブロール)	2 μ g/ml (5.1 μ M)	1.85
	5 μ g/ml (12.7 μ M)	3.48
	10 μ g/ml (25.5 μ M)	3.74
化合物 2 4 (リコカルコンA)	2 μ g/ml (5.9 μ M)	4.02
	5 μ g/ml (14.8 μ M)	4.14
	10 μ g/ml (29.6 μ M)	4.16
化合物 2 5 (リコカルコンB)	2 μ g/ml (7.0 μ M)	1.27
	5 μ g/ml (17.5 μ M)	1.93
	10 μ g/ml (34.9 μ M)	1.61
化合物 2 6 (リコカルコンC)	2 μ g/ml (5.9 μ M)	1.84
	5 μ g/ml (14.8 μ M)	2.20
	10 μ g/ml (29.6 μ M)	3.71
化合物 2 7 (グリシルジオンA)	2 μ g/ml (4.9 μ M)	1.44
	5 μ g/ml (12.2 μ M)	2.49
	10 μ g/ml (24.5 μ M)	3.05
化合物 2 8 (グリシルジオンC)	2 μ g/ml (4.9 μ M)	0.96
	5 μ g/ml (12.3 μ M)	1.48
	10 μ g/ml (24.6 μ M)	2.04

陽性対照としてトログリタゾン（三共株式会社）を用い、各化合物のPPAR γ リガンド活性を比較した。その結果、化合物1～19、21～24、26及び27において、トログリタゾン0.5 μ Mよりも強いPPAR γ リガンド活性が認められた。化合物20、25及び28では、トログリタゾン0.5 μ Mよりもやや弱い、PPAR γ リガンド活性が認められた。しかし、甘草の主要成分であり親水性成分であるグリチルリチン、グリチルリチンの糖残基が加水分解されたグリチルレチン酸、及びクエルセチン（化合物6のプレニル基がOH基に置換したフラボノール誘導体）には、PPAR γ リガンド活性が認められなかった。尚、クエルセチンにPPAR γ リガンド活性がないことは、文献情報（Liang, Y. C., et al., FEBS Letters, 496, 12～18, 2001）とも一致する。

（実施例5）2型糖尿病モデル・マウスに対する効果

遺伝的に肥満を呈し2型糖尿病を発症するモデル動物であるKK-A y マウスを用いて、化合物2の糖尿病に対する効果を評価した。陽性対照には、インスリン抵抗性改善薬・2型糖尿病治療薬であるピオグリタゾンを用いた。

KK-A y マウス（♀, 15週齢）を3群（各群5匹）に分け、粉末CE-2（日本クレア）を基本飼料として、無添加群（対照群）、ピオグリタゾン添加群、化合物2添加群を自由摂取にて与えた。ピオグリタゾンは、アクトス錠30（1錠中にピオグリタゾン30mgを含有、武田薬品工業株式会社）をメノウ乳鉢にて粉碎し、ピオグリタゾン添加量が0.02%となるように基本飼料に添加した。化合物2は、実施例1と同様にして調製したものを添加量0.1%となるように基本飼料に添加した。投与前日、及び投与後4日目に、マウス尾静脈より少量採血し、簡易式血糖測定器グルテストエース（株式会社三和化学研究所）を用いて、血糖値を測定した。その結果を表18に示す。

混餌投与を1週間した後、マウスを一晩絶食し、糖負荷試験を行った。すなわち、絶食したマウスに、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC-Na）溶液に懸濁したピオグリタゾンを20mg/kg、又は化合物2を100mg/kgで強制経口投与した。無添加群（対照群）は0.5%CMC-

Na 溶液を 5 ml / kg で投与した。投与 30 分後に、マウスに 40 % スクロース溶液を 2 g / kg で負荷した。糖負荷前、糖負荷後 30 分、1 時間、2 時間目にマウス尾静脈より少量採血し、簡易式血糖測定器グルテストエース（株式会社三和化学研究所）を用いて、血糖値を測定した。その結果を表 19 に示す。

5

表 18

10

血糖値 (mg/dl)	無添加群 (対照群)	ピオグリタゾン 添加群	化合物 2 (グリシリン) 添加群
投与前	476 ± 22	486 ± 26	474 ± 27
投与後 4 日	420 ± 14	191 ± 6 **	278 ± 14 **

** (p<0.01)

表 19

15

血糖値 (mg/dl)	無添加群 (対照群)	ピオグリタゾン 添加群	化合物 2 (グリシリン) 添加群
糖負荷前	80 ± 2	89 ± 3	78 ± 4
糖負荷後 30 分	355 ± 18	158 ± 11 **	225 ± 27 **
糖負荷後 1 時間	199 ± 11	136 ± 6 *	129 ± 8 *
糖負荷後 2 時間	100 ± 4	106 ± 4	100 ± 3

* (p<0.05), ** (p<0.01)

20

表 18 から明らかなように、ピオグリタゾンと同様に、化合物 2 を添加した餌を与えたマウスの血糖値（平均 ± SE, n = 5）は、投与 4 日目で統計的に有意に血糖値を低下させた。また、表 19 から明らかなように、化合物 2 は、ピオグリタゾンと同様に、糖負荷後の急激な血糖値の上昇を統計的に有意に抑制した。これらの結果から、化合物 2 は血糖低下作用及び血糖上昇抑制作用を有していることが確認され、ピオグリタゾンと同様にインスリン抵抗性改善作用を有していることが示唆された。

25

(実施例6)

甘草 (G. ウラレンシス : 東北甘草) の微粉碎品 (株式会社カネカサンスパイ
ス) 500 g にエタノール (99.5 容量%) 5 kg を加え、25℃で5時間抽
出した後、残渣を濾過して抽出液を得た。この抽出液から減圧下で溶剤を除去し、
5 黄褐色～黒褐色の甘草抽出物 45 g を得た。この甘草抽出物は良好な PPAR γ
リガンド活性を示した。この甘草抽出物に含まれる PPAR γ リガンド活性成分
及びグリチルリチンの含量を表 20 に示した。

尚、これら活性成分とグリチルリチンの含量は下記条件の HPLC 分析により
求めた。

10

(グリチルリチン分析条件)

カラム ; J' sphere ODS-H80 (ワイエムシイ) 4.6 mm (内
径) \times 250 mm (長さ)、カラム温度 ; 40℃、移動相 ; アセトニトリル : 1
0 mM リン酸水溶液 = 33 : 67 (v/v)、流速 ; 1 ml/min、検出波長
15 ; 254 nm、グリチルリチンの保持時間 ; 27.1 min。

(活性成分分析条件)

カラム ; J' sphere ODS-H80 (ワイエムシイ) 4.6 mm (内
径) \times 250 mm (長さ)、カラム温度 ; 40℃、移動相 ; 10 mM リン酸水溶
20 液に対してアセトニトリルの比率を分析開始 15 min まで 35% で一定とし、
15 min 以降 65 min 後に 70% となるように一定比率で上昇させ、65 m
in 以降 70 min まで 70% で一定とするグラジェント条件、流速 ; 1 ml/
min、検出波長 ; 254 nm。各成分の保持時間は、リコカルコン B が 5.2
min、グリチルイソフラボンが 13.3 min、イソリクイリチゲニンが 1
25 4.7 min、グリシクマリニンが 32.7 min、セミリコイソフラボン B が 3
4.2 min、グラブレンが 35.9 min、グリチルイソフラボンが 36.3
min、デヒドログリアスペリン C が 37.2 min、リコカルコン C が 39.
1 min、リコカルコン A が 40.2 min、グラブリジンが 44.7 min、
グリシリンが 48.1 min、グリアスペリン B が 51.1 min、グラブロー

50

ルが51. 8min、グリアスペンDが52. 7min、グリシルジオンAが53. 4min、3'-ヒドロキシ-4'-O-メチルグラブリジンが53. 5min、デヒドログリアスペリンDが55. 2min、グリウラリンBが58. 7min、4'-O-メチルグラブリジンが59. 8min、グリシルジオンCが63. 0min、ヒスパグラブリジンBが74. 1min。

表20

化合物名	含量 (wt%)
グリチルリチン	0.28
グリチルイソフラボン	0.15
イソクイリチゲニン	0.19
グリシクマリ	2.55
セリコイソフラボンB	0.45
グリチルイソフラボン	0.50
デヒドログリアスペリンC	2.82
グリシリン	1.46
グリアスペリンB	1.12
グリアスペリンD	2.44
デヒドログリアスペリンD	1.39
グリウラリンB	0.03
活性成分 計	13.10 %

(実施例7)

エタノールで抽出する代わりに、アセトンで抽出すること以外は実施例6と同様にして甘草抽出物18gを得た。得られた甘草抽出物は良好なPPAR γ リガンド活性を示した。また、この甘草抽出物に含まれる活性成分及びグリチルリチンの含量を実施例6と同様に調べて表21に示した。

25

表 2 1

化合物名	含量 (wt%)
グリチルリチン	0.06
グリチルイソフラバノン	0.19
イソリクイリチゲニン	0.16
グリシクマリン	3.50
セミリコイソフラボンB	0.01
グリチルイソフラボン	0.69
デヒドログリアスペリンC	4.09
グリシリン	1.91
グリアスペリンB	1.40
グリアスペリンD	3.38
デヒドログリアスペリンD	1.82
グリウラリンB	0.03

活性成分 計 17.18 %

(実施例 8)

エタノールで抽出する代わりに、酢酸エチルで抽出すること以外は実施例 6 と同様にして甘草抽出物 18 g を得た。得られた甘草抽出物は良好な PPAR γ リガンド活性を示した。また、この甘草抽出物に含まれる活性成分及びグリチルリチンの含量を実施例 6 と同様に調べて表 2 2 に示した。

表 2 2

化合物名	含量 (wt%)
グリチルリチン	0.05
グリチルイソフラバノン	0.18
イソリクイリチゲニン	0.09
グリシクマリン	3.44
セミリコイソフラボンB	0.62
グリチルイソフラボン	0.70
デヒドログリアスペリンC	4.09
グリシリン	1.96
グリアスペリンB	1.52
グリアスペリンD	3.41
デヒドログリアスペリンD	1.93
グリウラリンB	0.03

活性成分 計 17.97 %

(比較例 1)

エタノールで抽出する代わりに水で抽出すること以外は実施例 6 と同様にして甘草抽出物を得た。この甘草抽出物は P P A R γ リガンド活性を示さなかった。

5 (実施例 9)

甘草 (G. ウラレンシス : 東北甘草) の微粉碎品 (株式会社カネカサンスパイ
ス) 500 g に 5 k g の水を加えて、60℃で 1 日抽出した後、濾過して残渣を
得、それを減圧乾燥させた。得られた前抽出残渣にエタノール (99.5 容量%
) 2.5 k g を加え、25℃で 5 時間抽出した後、残渣を濾過して抽出液を得た。

10 この抽出液から減圧下で溶剤を除去し、黄褐色～黒褐色の甘草抽出物 47 g を得
た。この甘草抽出物は良好な P P A R γ リガンド活性を示した。この甘草抽出物
に含まれる P P A R γ リガンド活性成分及びグリチルリチンの含量を表 23 に示
した。

15 表 23

化合物名	含量 (wt%)
グリチルリチン	0.50
グリチルイソフラボン	0.18
イソリクイリチゲニン	1.93
グリシクマリ	2.10
セミリコイソフラボン B	0.40
グリチルイソフラボン	0.44
デヒドログリアスペリン C	1.19
グリシリン	1.44
グリアスペリン B	1.19
グリアスペリン D	1.59
デヒドログリアスペリン D	1.03
グリウラリン B	0.03

活性成分 計 11.52 %

25

(実施例 10)

甘草 (G. ウラレンシス : 東北甘草) の切断品 (甘草の全表面積に占める皮の
表面積の割合が約 8 割) から、実施例 6 と同様に 99.5 及び 95.0 容量%の
エタノール (含水率は 0.5 及び 5.0 容量%) で抽出し、甘草抽出物それぞれ

25. 8 g、29.5 gを得た。これらの甘草抽出物は良好なPPAR γ リガンド活性を示した。これらの甘草抽出物に含まれるPPAR γ リガンド活性及びグリチルリチンの含量を表24に示した。

5 表24

抽出時エタノールの含水率	0.5 vol%	5.0 vol%
化合物名	含量 (wt%)	含量 (wt%)
グリチルリチン	0.02	0.26
グリチルイソフラバノン	0.14	0.03
イソリクイリチゲニン	0.03	0.05
グリシクマリ	3.12	2.85
セミリコイソフラボンB	0.42	0.41
グリチルイソフラボン	0.65	0.54
デヒドログリアスペリンC	7.53	4.50
グリシリン	1.95	1.92
グリアスペリンB	3.92	3.62
グリアスペリンD	6.48	4.23
デヒドログリアスペリンD	4.43	3.63
グリウラリンB	0.12	0.11
活性成分 計	28.79 %	21.89 %

15

(実施例11)

甘草 (G. グラブラ) の微粉碎品から、実施例6と同様にして甘草抽出物を得た。得られた甘草抽出物は良好なPPAR γ リガンド活性を示した。また、この甘草抽出物に含まれる活性成分及びグリチルリチンの含量を実施例6と同様に調

20

表25

化合物名	含量 (wt%)
グリチルリチン	0.27
グリチルイソフラバノン	0.09
イソリクイリチゲニン	0.12
グラブレ	3.14
グラブリジン	22.08
グラブロール	4.33
3'-ヒドロキシ-4'-O-メチルグラブリジン	2.19
4'-O-メチルグラブリジン	3.03
ヒスパグラブリジンB	1.14
活性成分 計	36.12 %

25

(実施例 1 2)

甘草 (G. インフラータ) の微粉碎品から、実施例 6 と同様にして甘草抽出物を得た。得られた甘草抽出物は良好な PPAR γ リガンド活性を示した。また、この甘草抽出物に含まれる活性成分及びグリチルリチンの含量を実施例 6 と同様に調べて表 2 6 に示した。

表 2 6

化合物名	含量 (wt%)
グリチルリチン	0.17
イソリクイリチゲニン	0.19
リコカルコン B	2.57
リコカルコン C	3.61
リコカルコン A	20.34
グリシルジオン A	1.91
グリシルジオン C	0.94
活性成分 計	29.56 %

15

(実施例 1 3)

実施例 6 で得られた甘草抽出物にトウモロコシ澱粉、乳糖、カルボキシルメチルセルロース、ステアリン酸マグネシウムを混合し、さらにポリビニルピロリドンの水溶液を結合剤として加え、常法により顆粒化した。これにタルクを加え混合した後、打錠し下記組成の錠剤を得た。

甘草抽出物	10 重量部
トウモロコシ澱粉	25 重量部
乳糖	15 重量部
カルボキシルメチルセルロース	10 重量部
ステアリン酸マグネシウム	3 重量部
ポリビニルピロリドン	5 重量部
タルク	10 重量部

産業上の利用可能性

本発明によれば、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体（PPAR）リガンド剤、及びそれを含有する組成物が簡便且つ効率的に提供される。本発明の組成物は、インスリン抵抗性の改善、又は、インスリン抵抗性症候群の予防及び／若しくは改善剤として有用である。

10

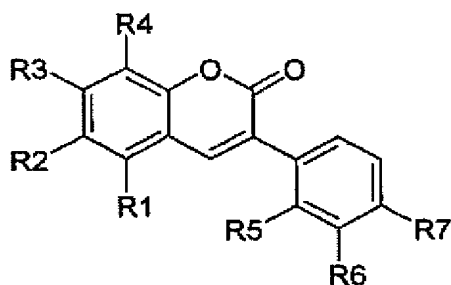
15

20

25

請求の範囲

1. プレニルフラボノイド、並びに、医薬上若しくは飲食上許容されるその塩、配糖体及びエステル化体からなる群より選択される少なくとも1種からなるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。
2. プレニルフラボノイドが、3-アリルクマリン誘導体、イソフラブー3-エン誘導体、イソフラバン誘導体、イソフラバノン誘導体、イソフラボン誘導体、フラボノール誘導体、フラバノン誘導体、カルコン誘導体及びジベンゾイルメタン誘導体からなる群より選ばれた少なくとも1種である請求の範囲第1項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。
3. プレニルフラボノイドが、一般式(1)で表される3-アリルクマリン誘導体からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

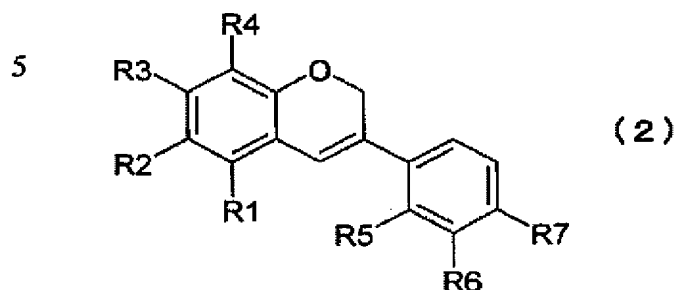


(1)

[R1~R7は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

4. 一般式(1)で表される3-アリルクマリン誘導体が、グリシクマリン又はグリシリンである請求の範囲第3項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

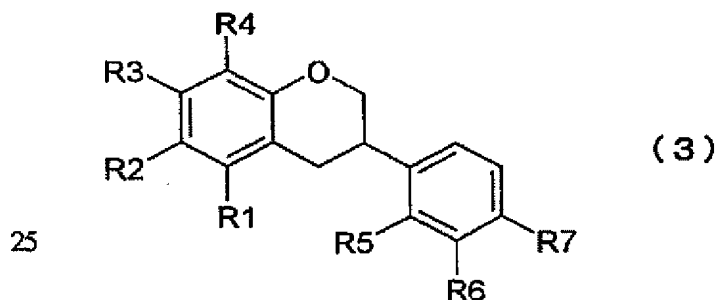
5. プレニルフラボノイドが、一般式(2)で表されるイソフラブー3-エン誘導体からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。



10 [R1～R7は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

6. 一般式(2)で表されるイソフラブー3-エン誘導体が、デヒドログリアスペリンD、デヒドログリアスペリンC又はグラブレンである請求の範囲第5項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

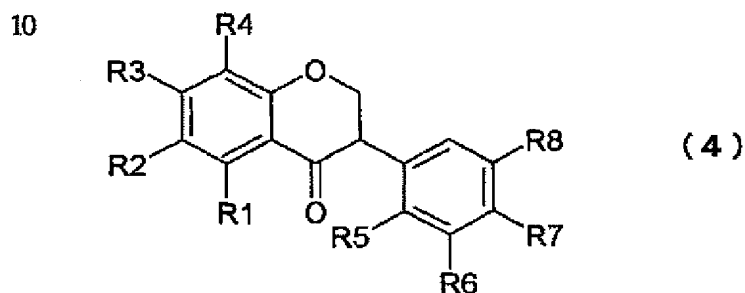
7. プレニルフラボノイドが、一般式(3)で表されるイソフラバン誘導体からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。



[R1～R7は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

8. 一般式(3)で表されるイソフラバン誘導体が、グリアスペリンD、グラブリジン、ヒスバグラブリジンB、4'-O-メチルグラブリジン又は3'-ヒドロキシ-4'-O-メチルグラブリジンである請求の範囲第7項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

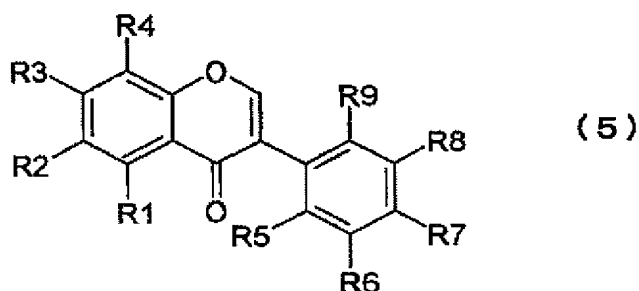
9. プレニルフラボノイドが、一般式(4)で表されるイソフラバノン誘導体からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。



[R1~R8は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

20 10. 一般式(4)で表されるイソフラバノン誘導体が、グリアスペリンB又はグリチルイソフラバノンである請求の範囲第9項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

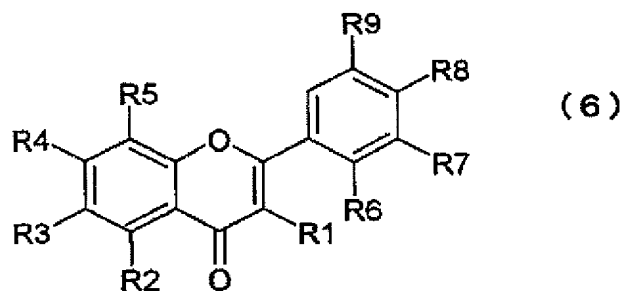
25 11. プレニルフラボノイドが、一般式(5)で表されるイソフラボン誘導体からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。



10 [R1～R9は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

12. 一般式(5)で表されるイソフラボン誘導体が、グリウラリンB、ルピ
 ワイテオン、セミリコイソフラボンB又はグリチルイソフラボンである請求の範
 囲第11項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

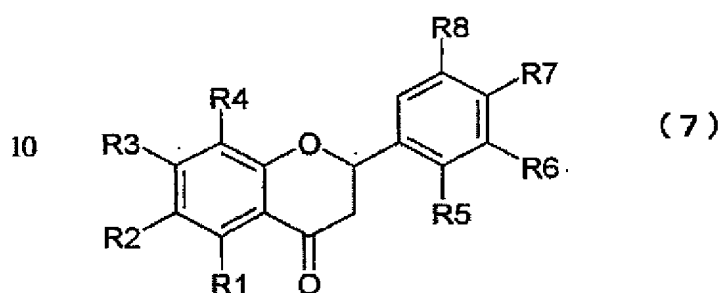
13. プレニルフラボノイドが、一般式(6)で表されるフラボノール誘導体
 からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体
 リガンド剤。



25 [R1はOH又は OCH_3 である。R2～R9は、プレニル基又は隣接する2個
 のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1
 つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

14. 一般式(6)で表されるフラボノール誘導体が、イソリコフラボノール、リコフラボノール又はトパゾリンである請求の範囲第13項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

15. プレニルフラボノイドが、一般式(7)で表されるフラバノン誘導体からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。



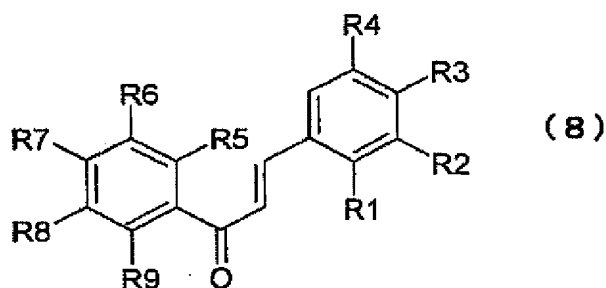
- 15 [R1～R8は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

16. 一般式(7)で表されるフラバノン誘導体が、グラブロールである請求の範囲第15項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

20

17. プレニルフラボノイドが、一般式(8)で表されるカルコン誘導体からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

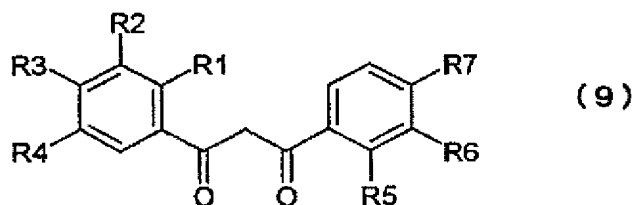
25



[R 1～R 9は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

- 5 18. 一般式(8)で表されるカルコン誘導体が、リコカルコンCである請求の範囲第17項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

19. プレニルフラボノイドが、一般式(9)で表されるジベンゾイルメタン誘導体からなる請求の範囲第1項又は2項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性
10 受容体リガンド剤。



15

[R 1～R 7は、プレニル基又は隣接する2個のRが $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ で6員環を形成した構造を少なくとも1つ以上含んでおり、その他はH、OH又は OCH_3 である。]

- 20 20. 一般式(9)で表されるジベンゾイルメタン誘導体が、グリシルジオンA又はグリシルジオンCである請求の範囲第19項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

21. プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体、並びに、医薬上若しくは
25 は飲食上許容されるその塩、配糖体及びエステル化体からなる群より選択される少なくとも1種からなるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

22. プレニルフラボノイドではないカルコン誘導体が、エチナチン、イソリクイリチゲニン、リコカルコンA又はリコカルコンBである請求の範囲第21項

記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

23. プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体、並びに、医薬上若しくは飲食上許容されるその塩、配糖体及びエステル化体からなる群より選択される少なくとも1種からなるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

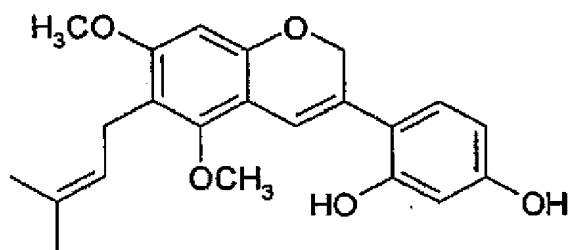
24. プレニルフラボノイドではないフラボノール誘導体が、ケンプフェロール3-O-メチルエステルである請求の範囲第23項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

10

25. ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体がペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 γ である請求の範囲第1～24項のいずれか1項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤。

- 15 26. 式：

20



で表される化合物。

27. 請求の範囲第1～25項のいずれか1項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤を含有することを特徴とする、植物由来の抽出物。

25

28. 抽出物が有機溶媒で抽出されたものである請求の範囲第27項記載の抽出物。

29. 抽出物中に、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤を乾体基

準で5重量%以上含有する請求の範囲第27項又は28項記載の抽出物。

30. 抽出物中に、グリシクマリン、グリシリン、デヒドログリアスペリンC、
デヒドログリアスペリンD、グリアスペリンB及びグリアスペリンDからなる群
5 より選ばれた少なくとも1種を、乾体基準で0.5重量%以上含有する請求の範囲第27～29項のいずれか1記載の抽出物。

31. 抽出物中に、グリシクマリン、グリシリン、デヒドログリアスペリンC、
デヒドログリアスペリンD、グリアスペリンB及びグリアスペリンDを、乾体基
10 準で各々0.5重量%以上含有する請求の範囲第27～29項のいずれか1項記載の抽出物。

32. 抽出物中に、グリチルイソフラバノン、グリチルイソフラボン、グリウ
ラリンB、セミリコイソフラボンB及びイソリクイリチゲニンからなる群より選
15 ばれた少なくとも1種を、乾体基準で0.01重量%以上含有する請求の範囲第27～29項のいずれか1項記載の抽出物。

33. 抽出物中に、グリチルイソフラバノン、グリチルイソフラボン、グリウ
ラリンB、セミリコイソフラボンB及びイソリクイリチゲニンを、乾体基準で各
20 々0.01重量%以上含有する請求の範囲第27～29項のいずれか1項記載の抽出物。

34. 抽出物中に、グラブレン、グラブリジン、グラブロール、3'-ヒドロ
キシ-4'-O-メチルグラブリジン、4'-O-メチルグラブリジン及びヒス
25 パグラブリジンBからなる群より選ばれた少なくとも1種を、乾体基準で0.5重量%以上含有する請求の範囲第27～29のいずれか1記載の抽出物。

35. 抽出物中に、グラブレン、グラブリジン、グラブロール、3'-ヒドロ
キシ-4'-O-メチルグラブリジン、4'-O-メチルグラブリジン及びヒス

パグラブリジンBを、乾体基準で各々0.5重量%以上含有する請求の範囲第27～29項のいずれか1項記載の抽出物。

5 36. 抽出物中に、リコカルコンA、リコカルコンB、リコカルコンC、グリシルジオンA及びグリシルジオンCからなる群より選ばれた少なくとも1種を、乾体基準で0.5重量%以上含有する請求の範囲第27～29項のいずれか1記載の抽出物。

10 37. 抽出物中に、リコカルコンA、リコカルコンB、リコカルコンC、グリシルジオンA及びグリシルジオンCを、乾体基準で各々0.5重量%以上含有する請求の範囲第27～29項のいずれか1記載の抽出物。

15 38. グリチルリチン含量が乾体基準で0.001重量%以上、0.5重量%以下である請求の範囲第27～37項のいずれか1項に記載の抽出物。

39. 甘草由来である請求の範囲第27～38項のいずれか1項に記載の抽出物。

20 40. 甘草が、グリキルリーザ・ウラレンシス、グリキルリーザ・グラブラ、グリキルリーザ・インフラータ及びグリキルリーザ・エチナータからなる群より選択される少なくとも1種である請求の範囲第39項記載の抽出物。

41. 甘草が、グリキルリーザ・ウラレンシスである請求の範囲第39項記載の抽出物。

25

42. 甘草が、グリキルリーザ・グラブラである請求の範囲第39項記載の抽出物。

43. 甘草が、グリキルリーザ・インフラータである請求の範囲第39項記載

の抽出物。

44. ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体のリガンド結合領域に結合する能力を有するプレニルフラボノイドを有効成分として含有することを特徴とする、
- 5 インスリン抵抗性の改善、又は、インスリン抵抗性症候群の予防及び／若しくは改善用組成物。
45. インスリン抵抗性症候群は、高インスリン血症、糖尿病、脂質代謝異常、肥満、高血圧及び動脈硬化性疾患からなる群より選ばれる少なくとも1つの症状
- 10 又は疾患である請求の範囲第44項記載の組成物。
46. 症状又は疾患が糖尿病である請求の範囲第45項記載の組成物。
47. ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体のリガンド結合領域に結合する能力を有するプレニルフラボノイドを有効成分として含有することを特徴とする、
- 15 炎症又は癌の予防及び／又は改善用組成物。
48. 請求の範囲第1～25項のいずれか1項記載のペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤を有効成分として含有することを特徴とする、インスリン抵抗性の改善、又は、インスリン抵抗性症候群の予防及び／若しくは改善用組成物。
- 20 又は疾患である請求の範囲第48項記載の組成物。
49. インスリン抵抗性症候群は、高インスリン血症、糖尿病、脂質代謝異常、肥満、高血圧及び動脈硬化性疾患からなる群より選ばれる少なくとも1つの症状
- 25 又は疾患である請求の範囲第49項記載の組成物。
50. 症状又は疾患が糖尿病である請求の範囲第49項記載の組成物。
51. 請求の範囲第1～25項のいずれか1項記載のペルオキシソーム増殖剤

応答性受容体リガンド剤を有効成分として含有することを特徴とする、炎症又は癌の予防及び／又は改善用組成物。

- 5 2. ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体のリガンド結合領域に結合する能力を有するプレニルフラボノイド又はペルオキシソーム増殖剤応答性受容体リガンド剤として、請求の範囲第27～43項のいずれか1項記載の抽出物を含有する請求の範囲第44～51項のいずれか1項記載の組成物。

- 10 5 3. 飲食用であることを特徴とする請求の範囲第44～52項のいずれか1項記載の組成物。

- 5 4. 医薬用であることを特徴とする請求の範囲第44～52項のいずれか1項記載の組成物。

- 15 5 5. 家畜又はペット用であることを特徴とする請求の範囲第44～52項のいずれか1項記載の組成物。

- 5 6. 錠剤、カプセル剤、顆粒剤又は散剤の形態にある請求の範囲第44～55項のいずれか1項記載の組成物。

20

- 5 7. 請求の範囲第27～43項のいずれか1項記載の抽出物を1剤当たり0.1mg～1000mg含有する請求の範囲第56項記載の組成物。

- 25 5 8. 全表面積に占める皮の面積の割合が3割以上の甘草から抽出することを特徴とする、請求の範囲第39～43項のいずれか1項記載の抽出物を製造する方法。

- 5 9. 甘草が切断品または周皮である請求の範囲第58項記載の製造法。

60. 甘草が切断品である請求の範囲第58項記載の製造法。

61. 甘草を脂肪酸エステルで抽出することを特徴とする、請求の範囲第39～43項のいずれか1項記載の抽出物を製造する方法。

5

62. 脂肪酸エステルが酢酸エチルである請求の範囲第61項記載の製造法。

63. 甘草を水溶性有機溶剤で抽出することを特徴とする、請求の範囲第39～43項のいずれか1項記載の抽出物を製造する方法。

10

64. 水溶性有機溶剤が、炭素数1～4の1価アルコール、アセトン又はそれらの混合物である請求の範囲第63項記載の製造法。

65. 水溶性有機溶剤が、エタノール、アセトン又はそれらの混合物である請求の範囲第63項記載の製造法。

15

66. 水溶性有機溶剤が、エタノールである請求の範囲第63項記載の製造法。

67. 含水率が30容量%以下の有機溶媒を用いて甘草から抽出することを特徴とする、請求の範囲第39～43項のいずれか1項記載の抽出物を製造する方法。

20

68. 抽出後、吸着処理及び／又は分別により精製する操作を更に含む請求の範囲第58～67項のいずれか1項記載の製造法。

25

69. 甘草からの抽出、及び／又は、その後の操作を、脱酸素雰囲気下に行う請求の範囲第58～68項のいずれか1項記載の製造法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/10572

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/12, 31/353, 31/37, 35/78, C07D311/30, 311/36, 311/38, 311/58, 493/04, 311/18, A61P3/04, 3/06, 3/10, 9/10, 9/12, 37/02, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/12, 31/353, 31/37, 35/78, C07D311/30, 311/36, 311/38, 311/58, 493/04, 311/18, A61P3/04, 3/06, 3/10, 9/10, 9/12, 37/02, 43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), Medline (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN), JICST FILE (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FUKAI, T. et al., Cytotoxic Activity of Low Molecular Weight Polyphenols against Human Oral Tumor Cell Lines, ANTICANCER RESEARCH, 2000, Vol.20, No.4, pages 2525 to 2536, full text	1-20, 25, 27-43, 47, 51-57, 26
A		
X	JP 3-68517 A (Tsumura & Co.), 25 March, 1991 (25.03.91), Full text (Family: none)	1, 2, 13-16, 23-25, 27-29, 38-46, 48-50, 52-69
X	TAMIR, S. et al., Estrogenic and Antiproliferative Properties of Glabridin from Licorice in Human Breast Cancer Cells, CANCER RESEARCH, 2000, Vol.60, No.20, pages 5704 to 5709, particularly, abstract; Fig. 1	1, 2, 7, 8, 25, 27-29, 34, 35, 38-43, 47, 51-57

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 February, 2003 (19.02.03)

Date of mailing of the international search report

04 March, 2003 (04.03.03)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/10572

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 7-165588 A (Tsumura & Co.), 27 June, 1995 (27.06.95), Particularly, Claims; Par. No. [0011] (Family: none)	21, 25, 27-29, 38-43, 58-60, 63-69
X	WEINBERG, D.S. et al., Identification and Quantification of Isoflavonoid and Triterpenoid Compliance Markers in a Licorice-Root Extract Powder, J.Agric.Food.Chem., 1993, Vol.41, No.1, pages 42 to 47, full text	27-29, 32-35, 38-43, 47, 51-62, 67-69
X	JP 2000-86527 A (Yugen Kaisha Matsukawa Kagaku), 28 March, 2000 (28.03.00), Particularly, Par. No. [0014] (Family: none)	27-29, 34-43
X	CHENG, Z.J. et al., Brousssochalcone A, a potent antioxidant and effective suppressor of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide- activated macrophages, Biochemical Pharmacology, 2001, Vol.61, pages 939 to 946, particularly, abstract	1, 2, 17, 18, 25, 47, 51, 53-56
X	RAFI, M.M. et al., Modulation of bcl-2 and Cytotoxicity by Licochalcone-A, a Novel Estrogenic Flavonoid, ANTICANCER RESEARCH, 2000, Vol.20, No.4, pages 2653 to 2658, full text	21, 22, 25, 27-29, 36-43, 47, 51-69
X	OKADA, Y. et al., Search for Naturally Occurring Substances for Prevention against the Complications of Diabetes, Inhibitory Effect on Aldose Reductase and Platelet Aggregation, International Congress Series, 1998, Vol.1157 (Towards Natural Medicine Research in the 21st Century), pages 295 to 303, full text	1-4, 13, 14, 44-46, 48-50
X	Izumi HARAMOTO, "Yuyosei Kanzo Extract ni yoru Melanin Sansei Yokusei Koka", The St.Marianna Medical Journal, 1994, Vol.22, No.6, pages 941 to 948, full text	1, 2, 5-8, 15, 16, 25, 27-29, 34, 35, 38-43, 47, 51-60, 63-69
X	JP 6-157277 A (Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.), 03 June, 1994 (03.06.94), Particularly, Par. Nos. [0005], [0006] (Family: none)	1, 2, 7, 8, 25, 27-29, 34, 35, 38-43, 47, 51-57
X	MIRANDA, C.L. et al., Antiproliferative and Cytotoxic Effects of Prenylated Flavonoids from Hops (Humulus lupulus) in Human Cancer Cell Lines, Food and Chemical Toxicology, 1999, Vol.37, No.4, pages 271 to 285, full text	1, 2, 17, 18, 25, 47, 51

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/12, 31/353, 31/37, 35/78, C07D311/30, 311/36, 311/38, 311/58, 493/04, 311/18, A61P3/04, 3/06, 3/10, 9/10, 9/12, 37/02, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/12, 31/353, 31/37, 35/78, C07D311/30, 311/36, 311/38, 311/58, 493/04, 311/18, A61P3/04, 3/06, 3/10, 9/10, 9/12, 37/02, 43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), Medline (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN), JICSTファイル (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A X	FUKAI, T. et al., Cytotoxic Activity of Low Molecular Weight Polyphenols against Human Oral Tumor Cell Lines, ANTICANCER RESEARCH, 2000, Vol. 20, No. 4, pages 2525-2536, 全文 JP 3-68517 A (株式会社ツムラ) 1991.03.25、全文 (ファミリーなし)	1-20, 25, 27-43, 47, 51-57 26 1, 2, 13-16, 23-25, 27-29, 38-46, 48-50, 52-69

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19.02.03

国際調査報告の発送日

04.03.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

伊藤 幸司



4C

9450

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ *	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	TAMIR, S. et al., Estrogenic and Antiproliferative Properties of Glabridin from Licorice in Human Breast Cancer Cells, CANCER RESEARCH, 2000, Vol. 60, No. 20, pages 5704-5709, 特にABSTRACT、Fig.1	1, 2, 7, 8, 25, 27-29, 34, 35, 38-43, 47, 51-57
X	J P 7-165588 A (株式会社ツムラ) 1995.06.27、特に【特許請求の範囲】、第【0011】段落 (ファミリーなし)	21, 25, 27-29, 38-43, 58-60, 63-69
X	WEINBERG, D.S. et al., Identification and Quantification of Isoflavonoid and Triterpenoid Compliance Markers in a Licorice-Root Extract Powder, J. Agric. Food. Chem., 1993, Vol. 41, No. 1, pages 42-47、全文	27-29, 32-35, 38-43, 47, 51-62, 67-69
X	J P 2000-86527 A (有限会社松川化学) 2000.03.28、特に第【0014】段落 (ファミリーなし)	27-29, 34-43
X	CHENG, Z.J. et al., Broussosochalcone A, a potent antioxidant and effective suppressor of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-activated macrophages, Biochemical Pharmacology, 2001, Vol. 61, pages 939-946、特にAbstract	1, 2, 17, 18, 25, 47, 51, 53-56
X	RAFI, M.M. et al., Modulation of bcl-2 and Cytotoxicity by Licochalcone-A, a Novel Estrogenic Flavonoid, ANTICANCER RESEARCH, 2000, Vol. 20, No. 4, pages 2653-2658、全文	21, 22, 25, 27-29, 36-43, 47, 51-69
X	OKADA, Y. et al., Search for Naturally Occurring Substances for Prevention against the Complications of Diabetes, Inhibitory Effect on Aldose Reductase and Platelet Aggregation, International Congress Series, 1998, Vol. 1157 (Towards Natural Medicine Research in the 21st Century), pages 295-303、全文	1-4, 13, 14, 44-46, 48-50
X	原本 泉, 油溶性甘草エキスによるメラニン産生抑制効果、聖マリアンナ医科大学雑誌, 1994, Vol. 22, No. 6, pages 941-948、全文	1, 2, 5-8, 15, 16, 25, 27-29, 34, 35, 38-43, 47, 51-60, 63- 69

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 6-157277 A (丸善製薬株式会社) 1994.06.03、 特に第【0005】、【0006】段落 (ファミリーなし)	1, 2, 7, 8, 25, 27-29, 34, 35, 38-43, 47, 51- 57
X	MIRANDA, C.L. et al., Antiproliferative and Cytotoxic Effects of Prenylated Flavonoids from Hops (<i>Humulus lupulus</i>) in Human Cancer Cell Lines, Food and Chemical Toxicology, 1999, Vol.37, No.4, pages 271-285、全文	1, 2, 17, 18, 25, 47, 51